

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HAYVAN BESLEME VE BESLENME  
HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

**HUMATLARIN KOYUNLARDA RUMEN PARAMETRELERİ ve  
BAZI KAN DEĞERLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Muhammet Ali TUNÇ**

**Tez Yöneticisi  
Yrd. Doç. Dr. Mehmet Akif YÖRÜK**

**Yüksek Lisans Tezi  
ERZURUM-2007**

## İÇİNDEKİLER:

	Sayfa No
Kısaltmalar.....	III
Tablolar Dizini.....	IV
Grafikler .....	V
Teşekkür.....	VI
Özet.....	VII
Abstract.....	VIII
1.Giriş.....	1
2.Genel Bilgiler.....	4
2.1.Verim artırıcı olarak kullanılan yem katkı maddeleri.....	5
2.1.1.Antibiyotikler.....	5
2.1.2.Probiyotikler.....	6
2.1.3.Prebiyotikler.....	9
2.1.4.Organik asitler.....	10
2.1.5.Enzimler.....	11
2.1.6.Humatlar.....	12
2.1.6.1.Humatların kimyasal yapısı ve özellikleri.....	12
2.1.6.2.Humat bileşikleri.....	14
2.1.6.2.1.Humus.....	14
2.1.6.2.2.Humin.....	15
2.1.6.2.3.Fulvik asitler.....	16
2.1.6.2.4.Ulmik asitler.....	16
2.1.6.2.5.Humik asitler.....	16

2.1.6.3.Humatlarla hayvanlarda yapılmış çalışmaları.....	18
2.1.6.3.1. Performans üzerine etkileri.....	18
2.1.6.3.2.Sağlık üzerine etkileri.....	20
2.1.6.3.3.Kan parametreleri üzerine etkileri.....	21
2.1.6.3.4.Mineral transferi üzerine etkileri.....	22
2.1.6.3.5.Stres üzerine etkileri.....	23
2.1.6.3.6.Mikrobiyal etkileri.....	23
2.1.6.3.7.Bağışıklık sistemi üzerine etkileri.....	23
2.2.Rumen biyolojisi ve ekosistemi.....	24
3.Materyal ve Metod.....	30
3.1.Materyal.....	30
3.1.1.Hayvan materyali.....	30
3.1.2.Yem materyali.....	30
3.1.3.Deneme kafesleri.....	30
3.2.Metod.....	31
3.2.1.Koçlara rumen kanüllerinin yerleştirilmesi.....	32
3.2.2.Örneklerin alınması.....	32
3.2.3.Kimyasal analizler.....	33
3.2.4.İstatistiksel analizler.....	35
4.Bulgular.....	36
5.Tartışma ve Sonuç.....	41
6.Kaynaklar.....	48

**KISALTMALAR:**

TUYA: Toplam uçucu yağ asitleri.

VLDL: Çok düşük dansiteli lipoprotein

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein.

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein.

FH: Farmagülatör humat.

CVMP: Committee for Veterinary Medical Products.

NPN: Protein niteliğinde olmayan azotlu bileşikler.

UYA: Uçucu yağ asitleri.

NFC: Yapısal olmayan karbonhidratlar.

NRC: National Research Council.

KM: Kuru madde.

OM: Organik madde.

HP: Ham protein.

ŞPP: Şeker pancarı posası

A.O.A.C: Official methods of analysis of agricultural chemist.

NDF: Nötral deterjan fiber.

ADF: Asit deterjan fiber

HPLC: High – Pressure Liquid Chromotography

## TABLolar DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Probiyotik Mikroorganizmalar.....	8
<b>Tablo 2.</b> Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Enzimler.....	12
<b>Tablo 3.</b> Araştırmada Kullanılan Toklu Yeminin Bileşimi.....	31
<b>Tablo 4.</b> Araştırmada Kullanılan Kuru Yonca ve Toklu Yeminin Kimyasal Bileşimi.....	31
<b>Tablo 5.</b> Sabah Yemlemesi Sonrası Saatlere Göre Rumen Sıvısı pH Değerleri.....	36
<b>Tablo 6.</b> Sabah Yemlemesi Sonrası Saatlere Göre Rumen Sıvısı NH <sub>3</sub> -N Düzeyleri.....	37
<b>Tablo 7.</b> Sabah Yemlemesi Sonrası Saatlere Göre Toplam Uçucu Yağ Asitleri ve Uçucu Yağ Asitleri Değerleri.....	38
<b>Tablo 8.</b> Sabah Yemlemesi Sonrası Saatlere Göre Rumen Sıvısı Protozoa Sayıları.....	39
<b>Tablo 9.</b> Bazı Kan Serumu Değerleri.....	40

## GRAFİKLER

	<b>Sayfa No</b>
Grafik 1. Yemleme Sonrası Rumen Sıvısı pH Düzeyleri.....	36
Grafik 2. Yemleme Sonrası Rumen Sıvısı NH <sub>3</sub> -N Düzeyleri .....	37
Grafik 3. Rumen Sıvısı Protozoa Sayıları.....	39

## TEŞEKKÜR

Yapmış olduğum yüksek lisans tez çalışmamda destek ve yardımlarını benden esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doç. Dr Mehmet Akif YÖRÜK'e, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Öğretim Üyelerine, çalışmada kullanılan koçlara yapılan operasyonlar için Prof. Dr. Zafer OKUMUŞ'un nezdinde Cerrahi Anabilim Dalı Araştırma Görevlilerine, kimyasal analizler sırasındaki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Selehattin ÇELEBİ'ye, Ziraat Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Mükерem KAYA'ya ve Dr. Arş.Gör. Güzin KABAN'a, yüksek lisans tez çalışmasında kullandığımız ürünlerin temininde yardımcı olan Farmavet İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş'den Dr. Ercan PETEKKAYA'ya yine ve çalışmam boyunca sabır ve desteklerinden dolayı kıymetli eşim Gülşen TUNÇ'a, teşekkürü bir borç bilirim.

## ÖZET

Farklı seviyelerdeki humat bileşiklerinin asitlerin rumen fermentasyonu parametreleri, rumen protozoa sayısı ve bazı kan değerleri üzerine etkilerini incelemek amacıyla yürütülen araştırmada hayvan materyali olarak, rumen kanülü takılmış 4 adet 1.5 yaşlı morkaraman koçu kullanıldı. Kaba/konsantre yem oranı 70/30 olarak ayarlandı. Humat preparatı Bovifarm konsantre yeme %0, 0.1 0.2 ve 0.4 olacak şekilde katıldı. Araştırma 4x4 latinkare deneme desenine göre yürütüldü. Her bir dönem 14 günü adaptasyon, 6 günü örnekleme olmak üzere 20 gün sürdürüldü.

Araştırma sonunda rumen sıvısı pH'sı, NH<sub>3</sub>-N düzeyi ile Uçucu Yağ Asiti (TUYA), TUYA içinde asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve asetik asit/propiyonik asit oranlarının humik asitlerden ve seviyelerinden önemli derecede etkilenmediği saptandı (p>0.05). Rumen protozoa sayısı bakımından kontrol grubu ile humat içeren gruplar arasında görülen farklılıkların önemli olmadığı tespit edildi (p>0.05).

Kan örneklerinde yapılan analizler sonucunda kontrole göre humatların ve dozlarının serum total protein, albumin, trigliserit, kalsiyum, fosfor ve VLDL üzerine etkisinin önemli olmadığı, ancak humatların tüm düzeylerinin kan serumu kolesterol ve LDL düzeyini düşürdüğü (p<0.05), HDL düzeyini ise özellikle %0.2 ve 0.4 humat içeren gruplarda önemli (p<0.05) derecede arttırdığı tespit edildi.

**Anahtar Sözcükler:** Humat, rumen fermentasyonu, protozoa sayısı, kan değerleri.



## **ABSTRACT**

### **“The effect of humate on rumen parameters and blood values in sheep”**

This study was conducted to investigate the effects of different levels of humate on ruminal fermentation parameters, protozoa count and some blood values in sheep. Four ruminally cannulated Morkaraman rams, 1.5 years old, were used in 4X4 Latin square design for 14 day adaptation and 6 day sampling periods. The animals were offered 70% forage and 30% concentrate supplemented with 0.0, 0.1, 0.2 and 0.4% humate (Bovifarm<sup>®</sup>). Humic acid supplementation did not effect the ruminal pH and ruminal ammonia-N ( $p>0.05$ ). Neither Total Volatile Fatty Acid (TVFA) concentration nor the proportion of acetic acid, propionic acid, butyric acid and acetic/propionic acid ratio in TVFA were affected by humate supplementation. There was no different amongst group in protozoa counts ( $p>0.05$ ).

In blood samples, there were no significant differences among levels for serum total protein, albumin, triglyceride, calcium, phosphorus and very low-density lipoproteins (VLDL). On the other hand, all levels of humate decreased ( $p<0.05$ ) the serum cholesterol and low-density lipoproteins (LDL), but increased ( $p<0.05$ ) the high-density lipoproteins (HDL) levels in groups supplemented with 0.2 and 0.4% humate.

**Key words:** humate, rumen fermentation, protozoa count, blood values.

## 1. GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusunu günümüzde ve gelecekte bekleyen en önemli sorun dengeli ve yeterli beslenme meselesidir. Şüphesiz bu durum, nüfusun gelecekteki besin madde ihtiyaçlarının karşılanabilmesi için doğal kaynakların ekonomik biçimde kullanılmasını ve yeni kaynakların devreye konulmasını zorunlu hale getirmiştir. Dolayısıyla bir yandan yem maddelerin üretiminin artırılması çabası sürerken, diğer yandan da mevcut yem maddelerindeki besin maddelerinin en iyi şekilde değerlendirilmesi üzerinde çalışmalar sürdürülmektedir.

İnsanların yeterli ve dengeli beslenmesinde hayvansal proteinlerin taşıdığı önem, günümüzün vazgeçilmez olgusudur. Bugün için ülkelerin gelişmişlik düzeyini gösteren önemli kıstaslardan biri kişi başına tüketilen hayvansal protein miktarıdır. Artan dünya nüfusunun hayvansal protein ihtiyacını karşılayabilmek ya hayvan sayısının artırılması ya da hayvan başına verimin artırılması ile gerçekleşebilir. Hayvan sayısının çok fazla artırılması mümkün görünmemektedir.

Hayvan başına üretimin düşük olmasının akla gelen ilk iki nedeni kullanılan ırkların düşük verimli olması ve bunların yeterince beslenememeleridir. Modern ve yeterli bir hayvansal üretim için verim potansiyeli yüksek hayvanlara sahip olmanın yanı sıra, bunların belirli prensiplere göre beslenip yetiştirilmeleri ile mümkündür. Hayvansal ürünlerin miktar ve kalitesinin artırılması, beslenmeye bağlı metabolizma hastalıklarının en aza indirilmesi, yem maddelerinin rasyonel kullanılması ile mümkün olmaktadır. Son yıllarda yapılan ıslah çalışmaları sonucunda verim gücü yüksek hayvanlar geliştirilmiş, yeni ve rasyonel besleme metotlarının araştırılması zorunlu hale gelmiştir.

Hayvansal besin madde ihtiyacını karşılayabilmek amacıyla günümüzde

geleneksel hayvancılığın yerini konvansiyonel hayvancılık denilen yoğun üretim şeklinin uygulandığı hayvancılık almıştır. Bu üretim şeklinde öncelikli şart hayvanlardan yüksek ve ekonomik verim olduğundan genelde ekolojik denge ve hayvan sağlığı kriterleri ikinci planda kalmıştır. Konvansiyonel hayvansal üretim teknikleri hayvanlardan elde edilen ürünlerin gerek miktarı gerekse kalitesinde önemli artışlara yol açmış, ama bununla beraber bir takım ciddi sorunları da beraberinde getirmiştir. Artan şehir nüfusunun et, süt ve yumurta gibi hayvansal gıdalara olan büyük talepleri hem çevresel bozulmalara hem de geleneksel karma tarım sistemlerinin olumsuz yönde etkilenmesine neden olmuştur. Bu durum, özellikle refah düzeyi yüksek sanayileşmiş ülkeleri hayvancılıkta farklı arayışlara itmiş, tüm bunlar da hayvansal üretimin çevreyi ve insan sağlığını daha fazla koruyacak şekilde yapılması için yeni teknoloji ve yöntemlerin uygulanması ve geliştirilmesi sonucunu ortaya çıkarmıştır.

Konvansiyonel tarımın bu ve benzeri problemleri nedeniyle, günümüzde artık pek çok ülkede insan ve hayvan sağlığını daha çok gözeten çevre dostu bitkisel ve hayvansal üretim teknikleri uygulanmaya başlanmıştır. Organik tarım, diğer bir ifadeyle organik bitkisel ve hayvansal üretim denilen bu üretim şeklinde de amaca uygun hayvanların yetiştirilmesi, bu hayvanların beslenmesi için uygun yemin ve hayvanlardan elde edilecek ürünlerin miktar ve kalitesini artırmak amacıyla uygun katkı maddelerinin kullanılması ve bunların etkinliklerinin araştırılması zorunluluk haline gelmiştir.

Verim artırıcı olarak kullanılan humatların ruminantlarda rumen fermentasyonu üzerine etkilerini ortaya koymak amacıyla yapılan çalışmaların yeni ve çok yetersiz olması, bu konuda daha fazla sayıda araştırma yapılmasının gerekliliğini ortaya

koymaktadır. Buradan hareketle söz konusu çalışmada humik, fulvik ve ulmik asitler ile bir kısım iz elementleri ihtiva eden Bovifarm dry<sup>TM</sup>'nin koyun yemlerinde farklı seviyelerde kullanılmasının rumen fermentasyon ve kan parametreleri ile rumen protozoa sayısı üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

Yapılan literatür taramalarında, ruminant rasyonlarına humat bileşiklerinin ilavesinin rumen fermentasyonu ve protozoa sayısı üzerine etkisinin incelendiği Türkçe ya da yabancı dilde yayınlanmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, koyun rasyonlarına değişik oranlarda ilave edilen humatın rumen fermentasyonu ve kan parametreleri ile rumen protozoa sayısı üzerine etkisinin önemli olup olmadığının ele alındığı bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ancak ruminantlarda kullanılan diğer verim artırıcılarla yapılmış sınırlı sayıda araştırmanın sonuçlarıyla mukayese edilerek tartışılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Hayvan beslemede verim artırıcılar, gelişmeyi hızlandırmak, hayvanlardan elde edilen ürünlerin miktar ve kalitesini üst düzeye çıkarmak amacıyla kullanılan, hayvan sağlığı üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olmayan maddeler olarak tanımlanır<sup>1</sup>.

Verim artırıcı yem katkı maddeleri ruminantlarda sindirim sistemindeki patojen mikroorganizmaların üremesine engel olarak faydalı mikroorganizmaların sayısını arttırarak hayvanın besin maddelerinden daha fazla yararlanabilmesini sağlamak için kullanılır. Ruminantlarda rumenin fizyolojik koşullarına bağlı olarak (pH değeri gibi) bakteri, protozoa gibi farklı mikroorganizma türlerinin oranındaki değişimler verim ve kaliteyi etkilemektedir<sup>2</sup>. Fakat son zamanlarda hayvan beslemede antimikrobiyal etkili yem katkı maddelerinin kullanımının sınırlı tutulması yönündeki tartışmalar ortaya çıkmıştır. Bu tartışmaların sebebi ise antimikrobiyal verim artırıcı yem katkı maddelerine karşı direnç kazanmış mikroorganizmaların geliştiği ve bu mikroorganizmalardan da insanlarda hastalık yapıcı olanlarının tedavi amaçlı kullanılan antibiyotiklere karşı çapraz direnç gösterdiklerine ilişkin iddiaların ortaya çıkmış olmasıdır. İnsan sağlığına dair risklerin ortaya çıkma ihtimalinden dolayı antibiyotik ve diğer antimikrobiyal verim artırıcı yem katkı maddelerinin kullanımının kısıtlanmasıyla diğer verim artırıcı maddelerinin kullanımı gündeme gelmiştir. Hayvan beslemede kullanılan başlıca verim artırıcı yem katkı maddeleri antibiyotikler, probiyotikler, prebiyotikler, organik asitler, enzimler ve humatlar olarak sınıflandırılmaktadır<sup>3</sup>.

## **2.1. Verim artırıcı olarak kullanılan yem katkı maddeleri**

### **2.1.1. Antibiyotikler**

Antibiyotikler bakteriler, mantarlar ve aktinomisetler gibi bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen, ayrıca sentetik olarak da elde edilebilen hastalık yapan mikroorganizmaların gelişimini durduran ya da onları öldüren maddeler olarak tanımlanabilir<sup>4</sup>. Antibiyotikler uzun zaman insan ve hayvanlarda hastalık tedavisinde kullanılmıştır. Zamanla teknolojik gelişmeler ve ilerlemeler doğrultusunda elde edilen birçok antibiyotik çeşidi, daha sonraları verim artırıcı olarak da kullanım alanı bulmuştur.

Antibiyotiklerin verim artırıcı etkisinin 1948 yılında tesadüfi bir şekilde Auremisin antibiyotiği bulunan üretim kalıntılarının yanlışlıkla kanatlılara yem olarak verilmesi sonucu ortaya çıktığı bildirilmektedir<sup>5</sup>. Antibiyotikler yaklaşık olarak kırk yıldan beri hayvansal üretimde gelişmeyi artırıcı antimikrobiyal yem katkı maddesi olarak kullanılmıştır<sup>6</sup>.

Antibiyotiklerin hayvanların fizyolojilerini olumsuz yönde etkileyen amonyak gibi antagonistik mikrobiyal metabolitlerin üretimini azalttığı<sup>7</sup>, aminoasitlerin ve B kompleksi vitaminlerin sentezini artırıp bazı enzim sistemlerini stimüle ederek yemden yararlanmayı iyileştirmek suretiyle besi performansını arttırdığı bildirilmektedir<sup>8</sup>.

Antibiyotikler Ca, P ve Mg gibi inorganik elementlerin emilimini artırıp, yem ve su tüketimini olumlu yönde etkileyerek büyümeye katkıda bulunurlar<sup>9</sup>.

Kanatlı yemlerine katılan antibiyotiklerin yem tüketimini, canlı ağırlık kazancını, yumurta verimini ve yumurta kabuk kalitesini arttırdığı tespit edilmiştir<sup>10</sup>. Ayrıca ruminantlarda da ürünlerin miktar ve kalitesini yükseltmek için antibakteriyal verim

arttırıcı yem katkı maddeleri olarak kullanılmışlardır<sup>3</sup>. Verim arttırıcı olarak bilinen antibiyotiklerin insanlarda hastalık oluşmasını sağlayan bazı bakterilerin direnç kazanmalarına yol açtığı, ayrıca hayvan ve hayvansal ürünlerde kalıntılar bıraktığı, bu kalıntılı hayvansal ürünleri tüketen insanlarda bazı alerjik reaksiyonların ortaya çıkmasına sebep olduğunu gösteren bazı bulgular onlara olan güveni azaltmıştır. Yapılan bir çalışmada da antibiyotik katkılı rasyonlarla beslenen hayvanların ürünlerine antibiyotiğin geçerek, bu ürünleri tüketen insanların sağlığını olumsuz yönde etkilediği ortaya konmuştur<sup>11</sup>.

Antibiyotiklerin verim arttırıcı olarak kullanılmasının insan ve hayvan sağlığı açısından zararlı olduğunun anlaşılmasından sonra ilk olarak 1986 yılında İsveç'te kullanılmaları yasaklanmış, daha sonra Avrupa Birliği ülkelerinde 01 Haziran 1999 tarihinde antibiyotiklerin verim arttırıcı olarak kullanımına sınırlama getirilmiştir. Avrupa Birliği'nin aldığı bu karara istinaden Türkiye'de de Tarım ve Köyişleri Bakanlığınca 30 Eylül 1999 tarihinden itibaren antibiyotiklerin iyonoforlar hariç, 2006 yılı Ocak ayından itibaren iyonoforlar da dahil tüm antibiyotik etkili bileşiklerin hayvan beslemede verim arttırıcı olarak kullanılması AB ve ülkemizde yasaklanmıştır<sup>12</sup>.

### **Probiyotikler**

Antibiyotiklerin verim arttırıcı olarak kullanılmasının yasaklanmasıyla kullanımı gündeme gelen alternatif yem katkı maddelerinden biri olan probiyotikler, verildiği hayvanın bağırsaklarında patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik etki gösteren, bağırsak mikroflorası üzerine yararlı etkiler oluşturan, patojen olmayan, gram (+) ve fakültatif anaerob, laktik asit üreten canlı doğal bağırsak bakterileri, maya kültürleri

ve hücreleri ile mantarlar, enzimler ve endüstriyel fermantasyon yan ürünlerini içeren doğal maddelerdir<sup>13</sup>. Probiyotikler bağırsak epitel hücrelerine implante olarak çoğalıp bir tabaka oluştururlar. Ayrıca probiyotikler proteaz, amilaz,  $\beta$ -glukanaz, lipaz gibi enzimlerin sentezlenmesini sağlayarak ve B grubu vitaminleri sentezleyerek sindirime olumlu etki yaparlar. Laktik asit, asetik asit, formik asit gibi organik asitler ile hidrojen peroksit üretilip ortamın pH'sının düşmesini sağlarlar. Bunun neticesinde de E.coli ve salmonella gibi patojenler üzerine inhibitör etki gösterirler. Yine probiyotik mikroorganizmaların bağışıklık sistemini güçlendirici etkileri de bulunmaktadır<sup>14</sup>. Günümüzde probiyotiklerin ruminant ve kanatlılarda performansın geliştirilmesi, büyümenin teşviki, stres durumlarında bozulan bağırsak flora dengesinin düzenlenmesi amacıyla kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır<sup>15</sup>.

Maya kültürünün koyunlarda ruminal fermantasyon üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, probiyotik ilavesinin rumen pH'sını önemli derecede düşürdüğü bildirilmiştir<sup>16</sup>. Ayrıca probiyotik eklenmiş rasyonların kullanımı sonucunda selülitik bakteri sayısının önemli ölçüde arttığı görülmüştür<sup>17</sup>.

Yapılan bir çalışmada rumenlerine fistül yerleştirilen sığırlara probiyotik katkısının verilmesi ile rumende selüloz sindirimini daha erken başladığı tespit edilmiştir<sup>18</sup>. Probiyotiklerin amonyak azotu üzerine etkisinin incelendiği bir araştırmada probiyotik ilavesi ile yemleme yapıldıktan 6 saat sonra amonyak azotunun %14 oranında arttığı saptanmıştır<sup>19</sup>. Yine aynı çalışmada probiyotiklerin karma yem ve ham protein sindirimini olumlu yönde etkilediği saptanmıştır.

Karma yemlerine probiyotik eklenmiş kanatlılarda, bağırsak mikroflorasının devamlılığının sağlandığı, probiyotiklerin amonyak üretimini ve bakteriyel enzim aktivitesini azaltarak, sindirim enzimlerinin aktivitelerini arttırdığı, yem tüketimini ve



enterotoksin nötralizasyonunu artırdığı sonucuna varılmıştır<sup>12,20,21</sup>. *Lactobacillus* ve streptokokkuslardan hazırlanan probiyotik preparatlarının patojen bakterilerin ürettiği enterotoksinleri nötralize ettikleri, *Laktobasilluslar* tarafından üretilen sindirim enzimlerinin var olan intestinal enzimlerin artışına yardımcı olduğu bildirilmiştir<sup>21,22</sup>.

**Tablo 1.** Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Probiyotik Mikroorganizmaları<sup>23</sup>

<b>Bakteriler</b>	<i>Lactobacillus casei</i>	<b>Mantarlar</b>
<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Lactobacillus cellebinois</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Bacillus lentus</i>	<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Aspergillus oryaze</i>
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Lactobacillus delbruekii</i>	
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<b>Mayalar</b>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bacteroides amylophilus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Torulopsis candida</i>
<i>Bacteroides capillous</i>	<i>Lactobacillus reuterii</i>	
<i>Bacteroides ruminocola</i>	<i>Leucanostoc mesenterodies</i>	
<i>Bacteroides suis</i>	<i>Pediococcus acidilacticii</i>	
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Pediococcus cerevisiae</i>	
<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	
<i>Bifidobacterium bitidum</i>	<i>Probionibacterium freudenreichii</i>	
<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Probionibacterium shermannii</i>	
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>	
<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i>	
<i>Colostridium butyricum</i>	<i>Streptococcus faecium</i>	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Streptococcus termophilus</i>	

Etlik piliçlerede karma yeme ilave edilen probiyotiklerin canlı ağırlık artışını önemli derecede artırdığını bildiren çalışmalara karşılık<sup>24,25</sup>, karma yeme katılan

probiyotiğin (paciflor) 0-42 günlük dönemde canlı ağırlığı etkemediğini bildiren çalışmalar da<sup>26,27</sup> mevcuttur.

### **2.1.3. Prebiyotikler**

Sindirim sistemi boyunca vücutta sindirilmeden kalın bağırsağa gelen ve kalın bağırsaktaki yararlı bakterilerin gelişimini ve aktivitelerini olumlu yönde etkileyen, patojen mikroorganizmaların çoğalmalarını ise baskılayan prebiyotiklerin, yaygın olan formları sindirilemeyen oligosakkaritler, inulin, maya kültürü, oligofruktoz, mannanoligosakkaritler, glukooligosakkaritler ve galaktooligosakkaritlerdir<sup>28,29</sup>.

Prebiyotiklerinde, probiyotikler gibi bağışıklık sistemi üzerine olumlu etkileri vardır<sup>30,31</sup>. Prebiyotik olarak kullanılan oligosakkaritlerin etki mekanizması şu şekilde gerçekleşir; Patojen mikroorganizmaların bağırsak yüzeyinde tutunmasını sağlayan fimbriyalara ortamdaki oligosakkaritler bağlandığında, bu tutunma gerçekleşemeyeceğinden kolonizasyon sağlanamaz. Böylece patojenler üreyemez ve dışkı yoluyla atılmış olurlar. Bu mekanizmanın esası patojen mikroorganizmaların fimbriyalarının bağırsaktaki bazı oligosakkaritlere afinite duymalarıdır<sup>32</sup>.

Prebiyotiklerin hayvanlarda; bağırsak mikrobiyal ekolojisini ve dışkı kalitesini zenginleştirme, besi performansını geliştirme ve hayvan sağlığını iyileştirme gibi etkileri vardır<sup>33</sup>. Maltoz, laktoz, sakkaroz gibi oligosakkaritlerin laktik asit düzeyini arttırdığı, sindirim sistemi pH'sını yükselttiği, yararlı bakteri sayısında bir artışa sebep olduğu, mannanoligosakkaritlerin intestinal mukozayı iyileştirdiği, villileri arttırdığı, özellikle jejunumda maltaz, aminopeptidaz ve alkali fosfataz aktivitesini arttırdığı bildirilmektedir<sup>34</sup>.

Oligosakkaritler memelilerin ince bağırsaklarında bulunan enzimler tarafından sindirilemez, fakat ruminant olmayan hayvanların bağırsaklarında mevcut olan bakteriler tarafından fermente edilirler. Ayrıca inulinin hem evcil hayvan beslenmesinde<sup>33</sup>, hemde insan beslenmesinde<sup>35</sup> prebiyotik olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Fruktooligosakkaritlerin etlik piliçlerde performans üzerine etkilerinin olmadığını bildiren çalışmalara<sup>36</sup> karşılık, yem tüketimini ve canlı ağırlık artışını iyileştirdiğini bildiren çalışmalar da<sup>37</sup> bulunmaktadır.

Yapılan çalışmalarda broyler rasyonlarına prebiyotik preparatı olan Bio-Mos'un ilave edilmesiyle canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma oranı ve selüloz sindirilebilirliğinin önemli oranda arttığı tespit edilmiştir<sup>38,39</sup>.

#### **2.1.4. Organik asitler**

Sindirim sisteminde bulunan mikroorganizmalar; laktik asit, asetik asit, propiyonik asit gibi organik asitler üretirler. Bu organik asitlerin yem katkı maddesi olarak kullanımı ile sindirim kanalındaki mikroflorada yararlı mikroorganizmaların sayısında artış ve patojenik mikroorganizmaların sayısında da azalma sağlanır<sup>40</sup>. Laktik asit, fumarik asit, propiyonik asit, sitrik asit, formik asit ve asetik asit gibi organik asitler hayvan beslemede geniş kullanım alanları bulmuşlardır.

Organik asitler sindirim kanalında pH'yı düşürüp ortamın asidik olmasını sağlayarak patojenik mikroorganizmaların gelişimini önler<sup>40</sup>.

Organik asitler düşük pH' da antibakteriyel etkiye sahiptirler. Bu etkilerini hem yemlerde hem de hayvanların sindirim kanalında göstermektedirler. Bazı organik asitlerde antifungal özelliğe sahiptir. Özellikle formik asit ve propiyonik asit yemlerin saklanması sırasında yemlerin mikrobiyal ve fungal yıkımdan korunması amacıyla

kullanılmaktadır<sup>41</sup>.

Kuru ot, arpa ve melaslı ŞPP (60:30:10) tüketen merinos koyunlarda, 8mmol/gün aspartat uygulaması pH ( $p<0.01$ ), propiyonat, asetat/propiyonat oranını artırmış, laktat oranını azalmıştır<sup>42</sup>.

Kung ve ark.<sup>43</sup>, organik asit preparatı malatın 140 g/gün dozunda uygulanmasının süt ineklerinde erken laktasyon döneminde asetat, bütirat ve TUYA arttırdığını; pH'yı etkilemediğini, geç laktasyon döneminde ise hiçbir parametreyi etkilemediğini bildirmişlerdir. Malatın kullanıldığı başka bir invitro çalışmada<sup>44</sup> malat ilavesinin rumen amonyak azotu, pH ve TUYA miktarını değiştirmedeği görülmüştür.

### **2.1.5. Enzimler**

Özellikle kanatlılarda kullanımı giderek artan yem katkı maddelerinden biri de enzimlerdir. Enzimlerin yem katkı maddesi olarak kullanılmasıyla, hayvanların yeterince veya hiç salgılayamadıkları enzimlerin sağlanarak yemlerin sindirilme derecelerinin artırılması, sindirimi güç olan ham selüloz ile diğer organik ve inorganik besin maddelerinden daha iyi yararlanılması amaçlanmaktadır<sup>45</sup>.

Enzimler proteini, nişasta ve yağları parçalayarak bunların sindirimini kolaylaştırırlar. Yem katkı maddesi olarak genellikle mantar ve bakteri kökenli enzimler kullanılmaktadır<sup>45,48</sup>. Enzim preparatı olarak proteaz, glukanaaz, selülaz, pektinaz, amilaz, fitaz ve lipaz gibi çeşitli enzimlerin karma yemlere tek bir tanesi ilave edilebildiği gibi birkaçının katılması da mümkündür. Enzimlerin yemlerin sindirilme derecelerini, metabolik enerji değerlerini arttırarak bu sayede yemden yararlanmayı arttırdıkları yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur<sup>48</sup>.

**Tablo 2.** Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Enzimler

Enzimler	Substrat	Etkisi
$\beta$ -glukanaz	Arpa ve yulaftaki $\beta$ -glukan	Bağırsak viskozitesini azaltır; altlık kalitesini ve yemden yararlanmayı iyileştirir; yumurta tavuklarında yumurta kirliliğini azaltır.
Ksilanaz	Buğday ve yulaftaki pentozanlar	Bağırsak viskozitesini azaltır; yemden yararlanmayı artırır; altlık kalitesini iyileştirir .
Pektinaz	Yemlerdeki pektin	Bağırsak viskozitesini azaltır.
Selülaz	Yemlerdeki selüloz	Selülozu parçalayarak diğer besin maddelerinin ortaya çıkmasını sağlar.
Proteaz	Bitkisel proteinler	Protein sindirilebilirliğini artırır.
$\alpha$ -amilaz	Nişasta	Endojen enzimleri destekler; nişastadan yararlanmayı artırır.
A-galaktosidaz	Soya oligosakkaritleri	Enerjiden yararlanmayı artırır.
Fitaz	Fitik asit	Bitkisel fosfattan yararlanmayı artırır

(Covan WD <sup>46</sup>, Hotten P<sup>47</sup>)

## 2.1.6. Humatlar

### 2.1.6.1. Humatların kimyasal yapısı ve özellikleri

Humatlar, topraktaki organik maddelerin toprak içerisinde zamanla çürüyüp ayrışmasıyla açığa çıkan karbonhidrat, amino asit ve fenoller gibi bazı maddelerin meydana getirdiği humustan köken alan humik, fulvik, ulmik asitten ve bazı mikro minerallerden meydana gelen<sup>49,50</sup>, kimyasal özelliklerinden dolayı elektron transferi yapabilen ve bu özellikleri nedeni ile birçok metal iyonu ile şelat oluşturabilen kompleks organik maddeler olarak tanımlanırlar<sup>51</sup>.

Humik maddeler esnek molekülü, hidrofilik, siyah veya kahverengi olan yüksek moleküler ağırlığa sahip olan humus parçalarıdır. Humusun elemanlarının çoğu aynı cins, nispeten büyük ve sağlam organik bileşiklerdir. Humus bileşikleri topraktaki mineral elementlerin şelatlanmasında, anyon-katyon değişiminde ve su tutma kapasitesinde önemli rol oynarlar. Humik maddelerin temel analizi C=O, CN ve CC

gruplarıyla (totalin %35-60'ını oluşturan aromatik gruplar) 4, 5 ve 6 üyeli karbon zincirlerini ve C-C-C-C (yaklaşık olarak totalin %40-50'sini oluşturan alifatik gruplar) kompleks karbon zincirleri içindeki sülfür, nitrojen, hidrojen, oksijen ve öncelikle karbon bileşiklerini açığa çıkarır. Humik maddelerin aşırı değişken moleküler özellikleri, çevresel şartlar ve kökenindeki bileşiklerle ilişkilidir. Humik maddeler çeşitli çaplarda moleküler elemanlar içerir. Bu elemanların bazı tipleri; alifatik bileşikler, furan halka bileşikleri, laktol, ketal, asetal, benzenin çeşitli bileşimleri, peroksitler, yağlar, kinonlar, karbonlar, eterler, fenoller, esterler, ligninler, polipeptidler, serbest yağ asitleri ve polisakkaritlerdir<sup>52</sup>. Humik maddeler asit ve alkali kısımlarından dolayı proteinlere benzer olarak dipolar iyonik yapıdadırlar. Humik asitler bu yapı sayesinde bazı iyonlarla elektrostatik etkileşim sağlarlar. Bu veriler neticesinde humatın toprakta var olmasına olanak sağlayan organik maddeler 3 farklı formda bulunur:

1- Canlı bitki ve hayvan maddeleri

2- Ölü bitki ve hayvan maddeleri

3- Çürümüş bitki ve hayvan maddeleri(humik maddeler)

Bu nedenle humatlar doğal çevre içindeki organik karbonun en yaygın formudur. Humik maddelerin çoğu toprağın içindeki daha küçük parçalara kadar çözülür. Özellikle alkali şartlar altında inorganik parçalara kimyasal bağlarla bağlıdır. Humik maddelerin önemli özelliklerinden biri de metal iyonları ile birleşerek oksit ve balçık minareleriyle suda eriyebilir ya da eriyemeyen bileşikler ve kılcal damarları aktive eden maddeler, yağ asitleri ve alkaliler gibi birbirini etkileyen organik bileşikler oluştururlar<sup>53</sup>.

Humatların hücre zarı geçirgenliğini arttırdıkları, karbonhidratlar gibi bazı besin

maddelerinin metabolizmalarında meydana getirdiği değişiklikler sonucunda besin maddelerinin emilimini ve bitkinin gelişimini olumlu yönde etkiledikleri bildirilmektedir<sup>54</sup>.

Bitkisel ve hayvansal üretimde çoğunlukla humik maddelerin çözünebilir formları olan sodyum ya da potasyum bileşikleri kullanılmaktadır. Potasyum humatlar, potasyum kaynağı olarak daha çok bitkisel üretimde kullanılırken, hayvansal üretimde hayvanlar için önemli olan sodyum içeriği nedeniyle sodyum humatlar kullanılmaktadır<sup>53</sup>.

Humik maddelerin hayvanlarda gelişme oranını arttırıp, hastalık riskini azalttığı ve hayvan başına artan yiyecek giderlerini azalttığı için, dünya hayvancılığında hayvan üretiminin ekolojisini ve ekonomisini düzeltmek için yem katkı maddesi olarak kullanımının yaygınlaştığı bildirilmektedir<sup>55</sup>. Humik maddelerin farklı hayvan türlerinin bağışıklık sistemini geliştirdiği ve bazı fizyolojik değişikliklerle sağlığını koruma kapasitesi kadar büyümeyle ilgili etkileri de literatürlerde belirtilmektedir.

## **2.1.6.2. Humat bileşikleri**

### **2.1.6.2.1. Humus**

Humus hayvan ve bitki kalıntılarında oluşan, gözenekli bir yapıya sahip olduğu için ışık mikroskobu altında tanınmayan, değişken karbon içerikli, kahverengi ya da siyah renkteki bileşikler olarak tanımlanır. Humus farklı kimyasal formüllerle yazılabilen organik asitler, lipitler, proteinler, amino asitler, peptidler, alkanesler, mumsular ve karbonhidratlar gibi humik olmayan maddelere de ayrılabilir<sup>52</sup>.

Humus humatların herhangi bir pH değerinde suda erimeyen parçasıdır. Bu maddelerin moleküler ağırlığı 300.000 dalton civarında olduğu için moleküler ebatları

büyük olanlarındandır. Bu maddenin oksijen içeriği en aza düştüğünde (% 32-34), nitrojen içeriği en yüksektir (%4). Yüksek molekül ağırlıklarından dolayı yüzeyleri fazla negatif yüklüdür. pH kuvvetli alkalidir<sup>53</sup>. Humik olmayan maddelerin molekülleri çok küçük olduğundan toprak içinde mikroorganizmalar tarafından hızla tüketilir. Humuslu toprakta bunun aksine doğal toprak şartları altında ayrışım(çürüme) yavaştır. Topraktaki humus, toprak mineralleri ile birleştiğinde birkaç yüzyıl boyunca toprak içinde kalabilir. Humus topraktaki organik madde elemanlarının büyüğü olup totalin %65-75'ini oluşturur. Humus toplam toprak kütleğinde yüzdesi en fazla olan ve toprağın verimliliğini sağlayan önemli bir unsur olarak düşünülür<sup>52</sup>.

Humik maddeler 4 büyük alt bölüme ayrılır:

1-Humin

2-Fulvik asitler

3-Ulmik asit

4-Humik asitler

Bu alt bölümler farklı asit ve alkali şartlarda pH seviyesi ayarlanmış su içinde her bir parçanın eriyebilme esasına göre ayrılmıştır.

#### **2.1.6.2.2. Humin**

Huminler düşük pH'da ve yüksek pH'da erimeyen humik maddelerin parçalarıdır. Humin bileşikleri 100.000'den 10.000.000 daltona kadar sıralanan, moleküler ağırlıklarından dolayı büyük organik maddeler olarak düşünülür. Huminler toprak içinde var olan humik maddeler içinde çürümeye en dirençli olanıdır. Huminlerin toprağın verimliliğinin geliştirilmesi, iyonik yük taşıma sistemi ve toprağın su tutma kapasitesini arttırmak gibi fonksiyonlarının olduğu bildirilmiştir<sup>52</sup>.



#### **2.1.6.2.3. Fulvik asitler**

Fulvik asitler tüm pH şartları altında eriyebilir. Bunlar çökelmezler ve seyreltilmiş alkali solusyon içinde çözünse bile hafif asidiğe dönüşebilen solusyonlardır. Bu maddeler 2000 daltonla en küçük moleküler büyüklüğe sahiptirler. Fulvik asit nitrojen içeriği en az (%4 den daha az) ve oksijen içeriği en yüksek olandır (%45-48). Bunun sonucunda nötr ve hafif alkali şartlarda toprak içinde hareketlidir<sup>53</sup>.

Fulvik asit molekülleri küçük olduğundan dolayı bitkilerin kök, gövde ve yapraklarına kolayca girebilirler. Böylece bitki dokularına iz elementleri taşıyabilirler<sup>52</sup>.

#### **2.1.6.2.4. Ulmik asitler**

Ulmik asit alkolde eriyebilen, yarı katı, koyu renkli maddedir. Hakkında çok az bilgi ve çalışma vardır<sup>56</sup>.

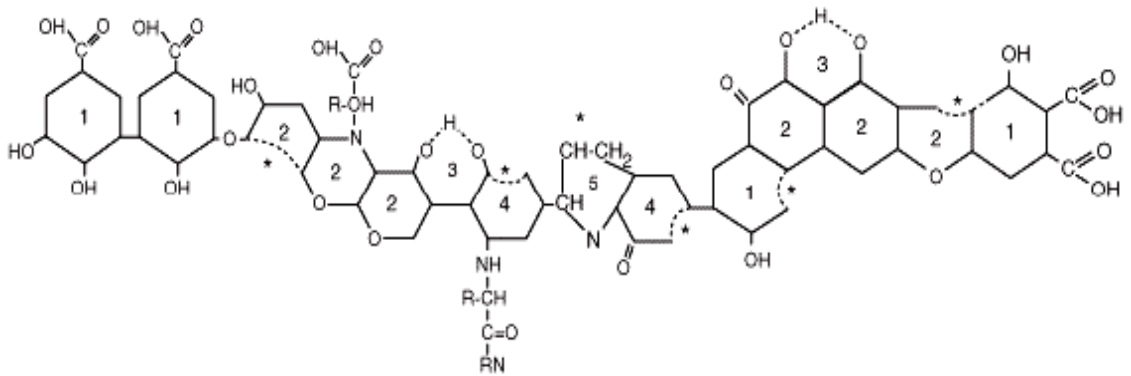
#### **2.1.6.2.5. Humik asitler**

Humik asitler alkali şartlar altında su içinde eriyebilen, ancak asidik şartlar altında su içinde erimeyen, zayıf alifatik ve aromatik organik asitlerin bir karışımıdır<sup>52</sup>. Humik asidin temel iskeletinin kimyasal yapısını fenantren, naftalen ve alkilbenzen oluşturur.

Humik asitler zayıf asit olan solusyonda hemen çökeliyor, seyreltilmiş alkali solusyonlarda eriyebilir. Bu maddeler orta moleküler büyüklükte ve moleküler ağırlığı 5000-100.000 dalton arasındadır. Humik asitler %4 nitrojen, %33-36 oksijen içeriğine sahiptirler. Orta moleküler büyüklüğünden dolayı makromoleküllerin peptising için yüzeyleri üzerindeki negatif yük yeterlidir. Humik asitlerin toprak içindeki

hareketliliği nötr, asidik, alkali şartlar içinde sınırlıdır<sup>53</sup>.

Humik asit polimerleri topraktaki organik bileşiklere bağlanan minarellere sahiptir. Polimerdeki periferik bölgeler doğal ve sentetik kimyasalları barındırma kapasitesindedirler. Humik asitler değişik kimyasal özelliklerinden dolayı çok çeşitli terimlerle ifade edilirler ve üç boyutlu bir yapıya sahiptirler. Humik asit moleküllerinin ortalama %35'i aromatik organik asitler iken geriye kalan kısım alifatik moleküllerden oluşur. Doğal olarak oluşan humik asit ekstraktlarının analizinde 60'ın üzerinde farklı elementlerin varlığı ortaya çıkmıştır. Ayrıca humik asitler metal bileşimi ve iyon değişimi sistemlerinde önemli rol sahiptir<sup>52</sup>. Humik asitler yeteri kadar potasyum humat ya da sodyum humatta eriyebilir (Humikasitler sadece alkali ortamda eriyebilir). Potasyum humatlar toprak için tercih edilen bir ürünken, sodyum humatlar ise inorganik elektrolit olduğu için hayvanlar için tercih edilir<sup>53</sup>.



Humik Asit Molekülü

## Humik asit Ürünlerinin Bileşimi

Humisolve-R' den alınan numune içeriğinin %73'ünün humik asit, geri kalanın bioaktif organik gruplar olduğu tespit edilmiştir<sup>57</sup>.

- a) %3,32'si karbonil, karboksil ve kinon grupları
- b) %28,1'i fenol hidroksiller ve aromatik gruplar içeren nitrojen
- c) % 7,78'i aromatik ve heterosiyelik bileşikler
- d) %44,7'si protonated aromatik karbonlar
- e) %16,06 'sı metil ve metilen gruplar

Humattaki bioaktif organik grupların oranı %83-94 olarak tesbit edilmiştir. Aktiflik canlı denemelerinde doğrulanmıştır. Humatlar bitki ve hayvan hücrelerine bioaktif organik kimyasallarla bağlıdır<sup>57</sup>.

### **2.1.6.3.Humatlarla hayvanlarda yapılmış çalışmalar**

#### **2.1.6.3.1. Performans üzerine etkileri**

Çiftlik hayvanlarında yapılmış çeşitli çalışmalarda humatların performansı artırdığı ve büyümeyi teşvik ettiği, karkas artışı üzerine olumlu etkilerinin olduğu ölüm oranını azaltıcı etkisinin bulunduğu saptanmıştır<sup>58-63</sup>.

Humat preparatı Bovifarmin rasyona ilavesinin morkaraman erkek kuzularında besi performansı üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yürütülen çalışmada<sup>59</sup>, İki haftalık alıştırmaya periyodunun ardından besi başı ağırlıkları tespit edilen kuzular kontrol(n=11) ve muamele gruplarını oluşturmak üzere iki farklı bölmeye alınmışlardır. Bovifarm, kuru madde esasına göre konsantre yemin kg'ında 3gr olacak şekilde, deneme grubunu oluşturan kuzulara 51 günlük besi periyodu boyunca verilmiştir. Araştırma sonucunda kontrol ve Bovifarm grupları için günlük canlı ağırlık artışı,

günlük kaba ve kesif yem tüketimi ve yemden yararlanma kat sayıları sırası ile 153.30, 161.39g; 364.02, 308.15g; 1.13, 1.01 kg; 9.75, 8.18 olarak tespit edilmiştir. Rasyona Bovifarm ilavesi günlük canlı ağırlık artışı ve yem tüketimi bakımından kontrol ve muamele grupları arasında istatistik olarak önemli bir fark oluşturmazken, yemden yararlanma katsayısı bakımından %19.23'lük bir iyileşmeye neden olmuştur.

Süt ineklerinde süt ve sütteki yağ oranında artış sağladığı, besi sığırlarında canlı ağırlık artışında iyileşme oluşturduğu, buzağılarda ishal problemini oldukça azalttığı, aynı zamanda sıcaklık stresine karşı hayvanların direncini arttırdığı gözlemlenmiştir<sup>60</sup>.

Humat preparatlarının buzağılarda etkilerinin incelendiği bir çalışmada<sup>61</sup>, dişi buzağuların 4 ay sonunda kontrole göre %13,4, erkek buzağuların ise %21,2 daha fazla canlı ağırlık kazandıkları gözlenmiştir.

Bailey ve ark.<sup>62</sup>, yaptıkları çalışmada yemlere katılan humatın erkek broylerde canlı ağırlığı önemli derecede etkilemediğini, yemden yararlanmayı iyileştirdiğini, dişi broylelerde ise 42 günde canlı ağırlığı önemli derecede artırdığını tespit etmişlerdir. Ancak aynı çalışmada humat katılan gruplarda ölüm oranını da önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır.

Yörük ve ark.<sup>63</sup>, yumurtlamanın son döneminde bulunan Isa-Brown ticari yumurta tavuğu yemlerine farklı düzeylerde (%0.0, 0.10 ve 0.20) humat bileşikleri ilavesinin performans ve yumurta kalitesi özellikleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, gruplarda yumurta verimini sırasıyla % 63.7, 70.0 ve 70; yumurta ağırlığını 66.7, 66.8 ve 67.3 g; günlük yem tüketimini 123.9, 127.8 ve 125.0 g; yemden yararlanma (kg yem/kg yumurta) değerlerini 2.97, 2.70 ve 2.68 olarak saptamışlardır. Araştırmada, yumurta verimi ve yemden yararlanma katsayısı dışında kalan performans özellikleri ile yumurta kalite özelliklerinin muamelelerden önemli derecede

etkilenmediklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, yumurta verimi ve yemden yararlanma katsayısının rasyona ilave edilen humat oranındaki artışa bağlı olarak iyileştiğini ifade etmişlerdir.

Humatlar hayvanların yemlerdeki besinlerden yararlanmasını artırarak, bağırsak florasının dengelenmesini de sağlar. Bu da hayvanın aldığı yem miktarı artmaksızın hayvanın canlı ağırlığının artmasına sebep olur. Optimum pH'nın sürmesi sonucunda sindirilebilirliğin bağırsak içinde arttığı, kokunun azaldığı, humat bileşiklerinin kalsiyum ve iz elementleri sağladığı bildirilmektedir<sup>64</sup>.

Humat bileşikleri böcek mücadelesinin maliyetini düşürür, sinek popülasyonunu azaltır, yem maliyetlerini azaltarak, yemden yararlanmayı geliştirir<sup>64</sup>.

#### **2.1.6.3.2. Sağlık üzerine etkileri**

Çürümüş bitkilerden elde edilen humik asitin adezyonlarda iyileştirici etkisi dişi ratlarda yapılan testlerde tespit edilmiştir<sup>65</sup>. Humatların kardiyovasküler sistem, endokrin sistem ve hayati önemi olan organlar üzerine zararlı bir etkilerinin olmadığı, histopatolojik ve histokimyasal metotlarla yapılan incelemelerle ortaya konmuştur. Humik asitlerin tabiatta doğal olarak oluşmasından dolayı toksisitesinin dikkate alınmayacak kadar az olduğu bildirilmektedir<sup>66</sup>.

Humik asitler patojenik bakterilerin büyümesine engel olarak mikotoksin seviyesini azaltır. Bağırsak sağlığının gelişmesine yardımcı olur<sup>64</sup>.

Humik asitlerin deri yoluyla, ağızdan yada deri altından uygulanmasında iltihaplanmayı engelleyici etkisi ortaya çıkar. İltihap engelleme kabiliyetinin humik asidin içermiş olduğu Flavonoit guruplar ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir<sup>67</sup>. Ayrıca humat bileşiklerinin kemik ve tendon hasarlarının onarımında bağlardaki

kollajen liflerine yardım ettiği, tendon kuvvetini %75 kadar artırdığı bildirilmiştir<sup>68</sup>.

Humat bileşikleri toksinler ve enfeksiyonlara karşı gastrointestinal sistemde mukus epitel üzerinde koruyucu bir tabaka oluştururlar<sup>67</sup>. Ayrıca periferel kılcıl damarlar, bağırsak ve midenin mukus zarı üzerinde iyi bir koruyuculuk sağlar. Bunun sonucu olarak toksik metabolitlerin emilmesi, özellikle enfeksiyonlardan sonra hayvan besinlerindeki zararlı maddelerin oluşması ya da artık maddelerin yeni besinlere çevrilmesi tamamen engellenir ya da azaltılır. Ayrıca humik asitler bağırsak yolu ile aşırı su kaybını engellemeye de yardım eder<sup>64</sup>. Humik asitler, hazımsızlık ve ishal tedavisi için 500-2000 mg kg<sup>-1</sup> ağızdan verilen dozlarda kümes hayvanlarında, ruminantlarda ve atlarda kullanılır. Özellikle ratlarla yapılan örnek deneylerinde humik asitin uzun süre uygulanması sonucunda ornitin dekarboksilini teşvik ettiği, DNA ve RNA seviyelerini, spermidini ve histamini arttırdığı gözlenmiştir<sup>69</sup>. Bazı hastalıklara karşı korunmada ve karaciğer fonksiyonlarında humatın rol oynadığı bildirilmiştir<sup>66</sup>.

Humik asit ürünü olan Promax'ın neutropil aktiviteyi teşvik ederek bakteriyel enfeksiyonlar süresince ölüm oranını azaltmak suretiyle, bakteri patojenlerine karşı korumayı artırır<sup>70</sup>.

### **2.1.6.3.3. Kan parametreleri üzerine etkileri**

Yapılan çalışmalarda humatların lipit metabolizmasına olumlu etkilerinin olduğu<sup>58,62,71</sup>, ve lipit metabolizması rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir<sup>71</sup>.

Humat katkılı yemle beslenen ratlarda total kolesterol, total lipit ve glukoz seviyelerinin azaldığı, lipoprotein, globulin, hemoglobin, hematokrit değeri ve

eritrosit sayısının arttığı bildirilmiştir<sup>71</sup>.

Malinowska ve ark.<sup>72</sup>, yaptıkları çalışma sonucunda, 100-300 mg kg<sup>-1</sup> düzeyinde humatların, kanama zamanı, pıhtılaşma zamanı, trombin zamanı, trombositlerin bir araya toplanmasının azalması üzerine önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Kırmızı kan hücreleri ve hemoglobin seviyesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu, kırmızı kan hücrelerinin humat varlığında daha fazla oksijen taşıma kabiliyetinde olduğu, fazla oksijen de hızlı ve derin soluk alıp vermeye yol açar. Bu sayede birey kendini son derece mutlu ve zinde hisseder. Yine fazla oksijenin yaraların iyileşmesini hızlandırabileceği bildirilmektedir.

Atların soğuk havada şiddetli antreman programlarından dolayı sıklıkla ayak bilekleri yaralanıp iltihaplanır. Bu yaralar için iyileşme süresi humatların kullanımıyla azalmaktadır<sup>66</sup>.

Kan serumundaki; albumin ve total immunoglobulinlerin artışı ve globulinlerin azalmasıyla protein profillerinin değiştiği, karaciğer ve göğüs kaslarında doymuş ve doymamış yağ asitlerinin oranında artış sağlandığı, karaciğerin total lipit içeriğindeki azalma ile göğüs ve bacak kaslarındaki artışın önemsiz olduğu, kümes hayvanlarında humat katkılı yemle beslemeden sonra karaciğer ve kaslardan alınan kanda bazı önemli minarellerde (Ca, Al ve Fe) artış sağlandığı bildirilmiştir<sup>58</sup>.

#### **2.1.6.3.4. Mineral transferi üzerine etkileri**

Humik asitler hücre duvarının geçirgenliğini artırır. Bu artan geçirgenlik hücreler ve kemiklerde minerallerin taşınmasının kolaylaşmasına izin verir. Kalsifikasyonu geliştirir<sup>78</sup>. Hücre içinde Ca<sup>+2</sup> seviyelerinde değişiklikler olur<sup>65</sup>. Yiyeceklerdeki iyodu bağlayarak<sup>73</sup> antitroidal etki yaptığı kabul edilmektedir<sup>74</sup>.

Fulvik asit vücutta yaşamı destekleyen minarelleri taşır, toksik metalleri yakalar ve vücuttan uzaklaştırır.

#### **2.1.6.3.5. Stres üzerine etkileri**

Humatlar strese sebep olan hormon üretimini azaltır. Bu durum özellikle sahaya çıkan buzağlarda gözlemlenebilir. Humatla beslenen hayvanlar çevre şartlarından ve kalabalıktan daha az etkilenirler. Bu etki koyunlarda, atlarda, ineklerde ve domuzlarda belirlenmiştir. Süt işletmelerinde humatla beslenen hayvanlar yemleme sırasında daha uysalken diğer hayvanlar daha agresiftir<sup>75</sup>.

#### **2.1.6.3.6. Mikrobiyal etkileri**

Mikrobiyal büyümeyi teşvik etmek için yiyeceklere eklenen humatların etkisi çevre, kültür ortamı ve türlere bağlı olarak oldukça farklı olabilir<sup>76</sup>. Doğal humik maddelerin, *C. albicans*, *Ent. cloacae*, *P. vulgaris*, *Ps. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *S. aerous*, *S. epidermidis* ve *St. piyogenes* gibi zararlı bakteri türlerine baskılayıcı etkisi, buna karşın yararlı mikroorganizmaları teşvik edici etkisi bulunmaktadır<sup>77</sup>.

Sağmal keçilerde humatlı besinlerin, meme iltihabı vakalarının azalmasına neden olduğu ve meme iltihabı vakalarının ortalamasını günde 3-4 vakadan ayda 4 vakaya düşürdüğü bildirilmiştir<sup>78</sup>.

#### **2.1.6.3.7. Bağışıklık sistemi üzerine etkileri**

Humatlar hayvanların bağışıklık işlevlerini geliştirir. E.coli gibi patojenlere karşı hayvanların savunmasını geliştirdiği gibi, ishal ve diğer sindirim bozukluklarını önemli derecede azaltır<sup>64</sup>. Pukhova<sup>79</sup>'ya göre sodyum humat kobalt radyasyonunun



ölümcül dozlarına maruz kalan melez ratların yaşam süresini arttırmıştır. Humatlar topraktan antibiyotik üretimi için etkili katkı maddeleridir<sup>76</sup>.

Humik maddelerin özellikle rhinovirüslere karşı antiviral etki gösterdikleri uzun zamandır bilinmektedir<sup>75</sup>. Toprak ekstraktı özellikle Coxsackie virüs A9, herpes simplex virüs tip 1 ve 2<sup>80</sup>, HIV<sup>81</sup>, grip tip A ve B<sup>75</sup> virüsleri ve solunum sistemi enfeksiyonlarına karşı etkilidir<sup>82</sup>.

Geçmişte humatlar domuzlarda ayak ve ağız hastalıklarının bulaşmasının önlenmesinde başarılı bir şekilde uygulanmıştır<sup>83</sup>. Lotosh<sup>66</sup>, humatların nonspesifik hastalıklara karşı direnç artıran bir ilaç olduğunu ifade etmiştir. Bu hastalıklardan atoksik anemi, toksik hepatit, peptik ülser ve hiper-kolestromide başarı sağlanmıştır.

## **2.2. Rumen biyolojisi ve ekosistemi**

Ruminantlar, insanlar tarafından kullanılmayan düşük kaliteli bitkileri, bu bitkilerin yapısında bulunan başlıca karbonhidrat olan selülozu, sindirim kanallarında bulunan mikroorganizmalar sayesinde sindirebilmekte, et süt gibi hayvansal ürünlere dönüştürerek insanlığın hizmetine sunmaktadır. Ruminant hayvanlarda verimlilik ön midede meydana gelen mikrobiyal sindirimin etkinliği altındadır. Ruminantları beslerken en önemli hedef rumen mikrobiyal ekosistemini oluşturan bakteriler, protozoalar, maya ve mantarlardan faydalanılarak verilen yemlerin et, süt gibi hayvansal ürünlere dönüşüm oranını olabildiğince arttırmaktır.

Ruminantlarda besin maddelerinin sindirimi büyük ölçüde mikrobiyal olarak rumende gerçekleşmektedir. Rumen mikroorganizmaları;

-İnce ve kalın barsakta sindirimleri çok sınırlı olan selüloz ve hemiselüloz gibi kompleks karbonhidratların sindirimini enzimleri vasıtasıyla sağlamak.

-Protein niteliğinde olmayan azotlu (NPN) bileşikleri değerlendirerek yüksek kaliteli mikrobiyal proteinlere çevirmek.

- Rumende B grubu ve K vitaminlerinin sentezlenmesini sağlamak.

- Bitkilerde fitin şeklinde bağlı minerallerin parçalanmasını temin etmektir<sup>84</sup>.

Rumen özel ekolojik şartları bulunan bir sistemdir. Bu ekolojik şartların oluşmasında gerekli unsurlar rutubet, pH, anaerob ortam, mikroorganizmaların varlığı, nötralizasyon, sürekli besin maddelerinin varlığı ve fermentasyon sonucunda oluşan ürünlerin uzaklaştırılmasıdır<sup>85</sup>.

Rumen ısısı genellikle 38-42 °C arasında değişmekle birlikte ortalama 39 °C'dir. Rumende besin maddelerinin fermente olabilmesi ve sindirim enzimlerinin etkilerini gösterebilmeleri için rumende bol sıvılı bir ortamın varlığı gerekmektedir<sup>86</sup>.

Rumende besin maddelerinin metabolize olabilmesi ve rumendeki metabolik olayların optimum düzeyde gerçekleşmesi uygun bir pH ile mümkündür. Üreaz aktivitesi hariç diğer tüm fizyolojik olaylar için optimum rumen pH'sı 5.5-7.0 arasındadır<sup>87</sup>.

Tüketilen yemlerin yapısına bağlı olarak rumen pH'sı değişmektedir. Rumen pH'sının belli sınırlar içerisinde tutulmasında önemli bir faktör rumen ortamının nötralizasyon olup, bunun sağlanmasında tükürük salgısı etkili olmaktadır. Tükürükte bulunan fosfat ve bikarbonat iyonları rumende tampon etkisi gösterirler. Tükürük salgısı asitlerin hızlı bir şekilde emilmesine yardımcı olup, pH'nın sabit kalmasını sağlar<sup>88</sup>.

Rumen pH'sı genellikle hayvanlara yedirilen yemin bileşimine, yemin kısa sürede tüketilmesine ve rumende kalış süresinin uzamasına bağlı olarak yemlemeden 2-6 saat

sonra en düşük düzeyine ulaşmaktadır. Bunu takiben ikinci bir yemlemeye kadar hafif bir yükselme olmaktadır<sup>88</sup>.

Rumen sıvısı pH'sı tüketilen yemin yapısına bağlı olarak selülozlu yemlerde 6.3-7.3 arasında değişirken, konsantre yemlerde 5.5-6.0 arasında değişmektedir<sup>89</sup>. Nişasta ve suda çözünebilen karbonhidratlar selüloz ve diğer karbonhidratlara göre daha hızlı parçalanarak pH'nın hızla düşmesine neden olur ve minimum değer olan 4.35'e ulaşır. Rumen pH'sı nişastaca zengin yemlerde 5.0 ve altında, şeker içeriği yüksek yemlerde 5.1 ve altında bulunmuştur<sup>87</sup>.

Rumende pH'nın 5.5'in altına düşmesi amonyağın rumen duvarından emilme derecesini azaltmakta, bu da daha fazla miktarda amonyağın protein sentezinde kullanılmasını sağlamaktadır<sup>90</sup>. Ancak pH'nın 5.5'in çok altına düşmesi ise rumenin ve hayvanın genel fonksiyonlarının bozulmasına, rumende laktik asit oranının artarak asidozis meydana gelmesine neden olabilmektedir<sup>91</sup>. Rumen sıvısında pH'nın 6.5'in üzerine çıkması amonyak absorpsiyonunun hızlanmasına neden olmaktadır<sup>90</sup>. Bundan dolayı özellikle üre ve diğer NPN bileşikleri kapsayan rasyonlarla beslemede rumen pH'sının optimal düzeyde kalması rumende metabolik olayların düzenli bir şekilde işlemlerini sağlayabilmektedir.

Rumende karbonhidrat, protein ve yağ fermentasyonu sonucu ortaya çıkan en önemli son ürün Uçucu Yağ Asitleri (UYA)'dir. UYA'lerinin başlıcaları asetik, propiyonik, bütirik, formik, valerik, izovalerik, kaproik ve kaprilik asitlerdir<sup>92</sup>. Rumende nişasta, selüloz, hemiselüloz, şekerler ve pektin gibi karbonhidratlar mikroorganizmalar tarafından salınan ekstraselüler enzimlerin yardımıyla önce monosakkaritlere, intraselüler enzimlerin yardımıyla da pirüvik asit ve son olarak da uçucu yağ asitleri (UYA), CO<sub>2</sub>, metan ve hidrojene kadar parçalanırlar. Rumende

UYA, karbonhidratların dekarboksilasyonu ile meydana geldiği gibi aminoasitlerin deaminasyonu sonucunda da oluşmaktadır. Ruminantlar enerji ihtiyaçlarının % 60'ını UYA'den karşılamaktadırlar<sup>93</sup>. Ruminant rasyonlarının % 70-80'i karbonhidratlardan oluşmaktadır. Yemlerdeki karbonhidratlar ikiye ayrılırlar. Yapısal olmayan karbonhidratlar (NFC = Non Fiber Carbohydrates), nişasta ve şekerlerden oluşan hücre içi; yapısal karbonhidratlar ise, selüloz, hemiselüloz, lignin ve pektinlerden oluşan hücre duvarı materyalleridirler. NFC'lar bakteri, protozoa ve maya gibi mikroorganizmaların çoğalabilmeleri için tek enerji kaynaklarıdır<sup>94</sup>.

Rumen'de oluşan uçucu yağ asitleri konsantrasyonu, rasyonun türüne, hayvanın beslenme düzeyine, mikrobiyal aktiviteye ve emilime bağlı olarak 5-18 mmol/100 ml arasında değişmektedir. Selüloz ve hemiselülozca zengin yemler rumen pH'sını azaltıp asetik asit yönlü UYA oluşumuna neden olurlarken, nişasta ve şekerli yemler ise propiyonik ve bütirik asit oranının artmasına neden olmaktadır. Rumen'de oluşan UYA'lerinin % 80-90'ını asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit oluşturmaktadır<sup>97</sup>. Oluşan UYA'lerinin oranı rasyonun türüne bağlı olarak değişmekle birlikte ortalama % 34-74 asetik, %17-47 propiyonik ve % 4-14 bütirik asitlerden oluşmaktadır. Kolay eriyebilir karbonhidrat yönünden zengin yemlerle beslemede rumende asetik asit %45-69, propiyonik asit %20-21, bütirik asit %10-30; nişastaca zengin yemlerde asetik asit %40-59, propiyonik asit %14-30, bütirik asit %20; hemiselülozca zengin yemlerde asetik asit %56-57, propiyonik asit %18-26, bütirik asit %11-21; selülozca zengin yemlerde asetik asit %66-79, propiyonik asit %6-9, bütirik asit oranı %6-23 arasında değişmektedir<sup>95,96</sup>.

Yemlerle alınan proteinlerin ve protein niteliğinde olmayan azotlu bileşiklerin rumende sindirimi sonucunda ortaya çıkan amonyak (NH<sub>3</sub>) rumen fermentasyonu ve

mikrobiyal gelişme açısından önemlidir. Optimum mikrobiyal protein sentezi için rumen amonyak düzeyinin 15-20 mg/100 ml olmasının gerektiği, amonyak düzeyinin 170 mg/100 ml'ye çıktığında ise amonyak zehirlenmesinin olduğu bildirilmektedir<sup>97</sup>. Ancak mikrobiyal protein sentezi için en uygun amonyak seviyesinin 23,5 mg/100 ml<sup>98</sup> 15-20 mg/100 ml<sup>97</sup>, 5-15 mg/100 ml<sup>2</sup> olması gerektiği bildirilmiştir.

Rumende oluşan NH<sub>3</sub>'ün kaynağını;

1-Bakterilerin parçaladığı gerçek proteinler.

2-Bakterilerin parçaladığı protein yapısında olmayan azotlu (NPN) bileşikler.

3-Rumen mikroorganizmalarının kendi metabolizmaları sonucunda oluşturdukları azotlu bileşikler.

4-Karaciğerden kan dolaşımına geçişte tükürük yoluyla rumene dönen (rumino hepatic azot dolaşımı) amonyak.

5-Hava ve yem içerisinde bulunan ve rumen bakterileri (*Methano bacterium ruminantium*) tarafından fikse edilen serbest azot oluşturmaktadır<sup>97</sup>.

Rumende fermentasyon sonucu oluşan NH<sub>3</sub> düzeyi kontrol mekanizmaları aracılığıyla belirli sınırlar içinde tutulmaya çalışılır. Kontrol mekanizmaları rumen NH<sub>3</sub> düzeyi normal sınırlar altına düştüğünde rumen duvarından NH<sub>3</sub> emilimini azaltarak ve idrar yoluyla atılan azot miktarını en alt düzeye indirerek, NH<sub>3</sub> düzeyi rumen mikrobiyal protein sentezi miktarını aştığı durumlarda ise idrarla atılan azot miktarını artıracak şekilde çalışır<sup>99</sup>.

Rumen mikroorganizmalarının büyüüp çoğalmaları ve işlevlerini sürdürebilmeleri için anaerob bir ortam gerekmektedir<sup>8</sup>. Rumen fermentasyonda görevli mikroorganizma türleri bakteriler, protozoalar, maya ve mantarlar olarak sınıflandırılır<sup>100</sup>.

Rumendeki mikroorganizma popülasyonunu oluşturan mikroorganizmaların tür ve sayısı, yemin yapısı ile rumen ekolojik ortamına bağlı olarak değişmektedir. Kolay fermente olabilir karbonhidratların tüketilmesi ile toplam mikroorganizma sayısı artarken protozoa sayısı düşmekte; selülozca zengin yemlerin tüketilmesi durumunda ise toplam mikroorganizma sayısı azalırken protozoa sayısı artmaktadır<sup>92</sup>.

Rumen sıvısının 1 ml'sinde tamamına yakınının (% 98) anaerob karakterli olduğu bildirilen 60 dan fazla türden yaklaşık  $10^9$  - $10^{10}$  sayıda bakteri bulunmaktadır<sup>8,91,106,107</sup>. Rumede sentezlenen mikrobiyal proteinlerin yaklaşık % 46'sının bakteriler tarafından sentezlendiği belirlenmiştir. Selüloz ve şeker yönünden zengin yemler rumendeki bakteri sayısını azaltırken, nişastalı yemler bakteri sayısını artırır<sup>93</sup>.

Rumen sıvısının 1 ml'sinde 10 türden  $10^6$  kadar protozoa olduğu tespit edilmiştir<sup>84,101</sup>. Protozoalar içerisinde siliatlar 1 ml rumen sıvısında  $10^3$ - $10^6$  adet ile en büyük kısmı oluşturur<sup>99</sup>. Bakteriler, protein ve NPN bileşiklerinden kendi yapı proteinlerini oluştururken, protozoalar ise daha çok bakterileri fagosite ederek daha kaliteli mikrobiyal proteinlerin oluşmasına katkıda bulunurlar. Rumende oluşan mikrobiyal proteinin % 21'nin protozoalar tarafından meydana getirildiği ve bunun % 73 oranında sindirim kanalında sindirildiği bildirilmektedir<sup>101</sup>.

Mayaların da dahil olduğu mantarlar rumen mikroorganizmalarının diğer bir grubunu oluşturur. Rumen ekosisteminde mantarlar oksijeni tüketerek anaerobiozisi sağlarlar<sup>93</sup>. Rumen içeriğinde 13 türden  $7.6 \times 10^8$  kadar mantarın olduğu belirlenmiştir<sup>8,99,102</sup>.

Bunun dışında rumende bakterilerden daha küçük organizmalar da bulunmaktadır. Bunlardan anaerobik mükoplazmaların sayısının, koyun ve sığırlarda bir gram rumen sıvısında  $10^5$ - $10^7$  olarak bildirilmektedir<sup>103</sup>.

### **3. MATERYAL ve METOD**

Bu araştırmada, ruminant rasyonlarında verim artırıcı olarak kullanımı oldukça yeni olan humatların farklı seviyelerinin, ruminantlarda verim ve performansı etkileyen rumen ve kan parametreleri ile rumen protozoa sayıları üzerine etkileri incelendi.

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Hayvan materyali**

Araştırmada hayvan materyali olarak rumen kanülü takılmış 1.5 yaşında yaklaşık 45 kg ağırlığında 4 baş Morkaraman koç kullanıldı.

##### **3.1.2. Yem materyali**

Araştırmada hayvanlar denemenin 10 gün öncesinden başlayıp çalışma süresince NRC(1985)<sup>104</sup> standartlarına göre yaşama payı ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde bileşimleri Tablo 3’de, besin madde ve enerji düzeyleri Tablo 4’de verilen toklu besi yemi ve kuru yonca ile beslendi. Denemede kaba yem/konsantre yem oranı 70/30 olarak ayarlandı. Kaba ve konsantre yemler sabah (08:00) ve akşam (20:00) olmak üzere iki öğün şeklinde yedirildi. Araştırmada kullanılan yonca Erzurum piyasasından satın alındı. Toklu yemi de Erzurum’da bulunan özel yem fabrikasından temin edilerek, Humat preparatı Bovifarm\* toklu yemine %0, 0.1, 0.2 ve 0.4 seviyelerinde katıldı.

##### **3.1.3. Deneme kafesleri**

Araştırmada tokluların barındırıldığı kafesler, demir profilden, tabanları ızgara şeklinde idrar ve dışkı aşağı düşecek aralıklarda yaptırıldı. Kafeslerin boyutları

---

\* Bovifarm Humik, fulvik, ulvik ve fulfonik asitler ile organik minareler, fitoenzimler ve fitohormonların sinerjistik kombinasyonları

125x110x100 cm ebatlarında olup yan tarafları kafes teli ile kaplandı. Yemlik ızgara tabanından 45 cm yükseklikte 30 cm derinlikte ve 40 cm uzunluğunda yapıldı. Suluk yemliğin karşı köşesine monte edildi.

**Tablo 3.** Araştırmada Kullanılan Toklu Yeminin Bileşimi, %

Arpa	20.40
Kepek	20.00
Mısır	15.00
Pamuk Tohumu Küspesi	12.50
Buğday	10.00
Ayçiçeği Tohumu Küspesi	9.00
Melas	9.00
Mermer Tozu	2.50
Tuz	1.00
By Pass Yağ	0.50
*Vitamin-Mineral Premiksi	0.10

\*Her bir kg da 7 000 000 I,U, Vitamin A, 1 000 000 I,U, Vitamin D3, 30 000 mg Vitamin E, 50 000 mg Mangan, 50 000 mg Çinko, 50 000 mg Demir, 10 000 mg Bakır, 8 000 mg İyot, 200 mg Kobalt, 150 mg Selenyum ve 100 mg Magnezyum bulundurmaktadır,

**Tablo 4.** Araştırmada Kullanılan Kuru Yonca ve Toklu Yeminin Kimyasal Bileşimi, %

	KM	HK	HP	HY	NDF	ADF	OM
Kuru Yonca	92.44	8.04	13.08	0.78	43.64	35.12	84.40
Toklu Yemi	89.70	5.31	18.50	2.9	--	--	84.39



## **3.2. Metod**

### **3.2.1. Koçlara rumen kanüllerinin yerleştirilmesi**

Satın alınan koçlar sonra Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Barınağına getirilerek özel olarak hazırlanmış kafeslere yerleştirilip, bir ay süreyle kafes ortamına alıştırdı. Hayvanlara iç ve dış parazitlerle mücadele amacı ile antiparaziter ilaç uygulandı. Hayvanların rumenlerine sert silikondan yapılmış rumen kanülleri Atasoy ve Taş<sup>105</sup>'in bildirdiği yöntemle lokal anestezi altında yerleştirildi. Operasyondan sonra hayvanların iyileşmesi için 20 gün beklendi.

Çalışma, 4x4 Latin Kare deneme desenine göre oluşturulan 4 grupta yürütüldü<sup>106</sup>. Deneme başlangıcında, hangi yemi hangi hayvanın tüketeceği gelişi güzel belirlendikten sonra, takip eden dönemlerde sıra bir basamak kaydırılarak bütün yemlerin her bir hayvan tarafından tüketilmesi sağlandı. Her dönem 14 gün alıştırma 6 gün örnek alma olmak üzere toplam 20 gün sürdürüldü. Hayvanların rasyonları kuru madde esaslı baz alınarak 780 g kuru yonca ve 340 g %0, 0.1, 0.2 ve 0.4 düzeyinde humat içeren toklu yeminden oluşturuldu. Denemeler süresince hayvanların önlerinde mineral-vitamin içeren yalama taşları ve temiz içme suyu bulunduruldu.

### **3.2.2. Örneklerin alınması**

Çalışmada her dönemde 14 günlük alıştırma periyodunu takiben, 15. günde sabah yemlemesinden 2 saat sonra Vena jugularisten yaklaşık olarak 10 ml kan alındı. Alınan kan örnekleri 4000 devir/dk'da 10 dk santrifüj edilerek serumları çıkartıldı. Analiz yapıncaya kadar derin dondurucuda saklandı.

Dönemlerin 18. gününde sabah yemlemesinden 2, 4, 6, 8 saat sonra her defasında 100 ml ve 20. gününde sabah yemlemesinden 2, 4, 6, 8 saat sonra protozoa sayılarını belirlemek amacıyla rumen sondası aracılığıyla her defasında 50 ml rumen sıvısı alındı.

### 3.2.3. Kimyasal analizler

Denemede kullanılan yonca ve toklu yemi örneklerinde kuru madde (KM), ham kül (HK), organik madde (OM) ve ham protein (HP) içerikleri A.O.A.C<sup>107</sup>'de bildirilen metotlara göre yapıldı. Nötral deterjan fiber (NDF) içeriği Van Soest ve ark.,<sup>108</sup>'a göre, asit deterjan fiber (ADF) içeriği ise Georing ve Van Soest<sup>109</sup>'e göre Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarlarında belirlendi.

Serum örneklerinde total kolesterol miktarları Dialab lot 001CH006, trigliserid Dialab lot 001TRI06, glukoz Dialab lot 012 GLU05, kalsiyum Chema Diagnostica lot 00-015, fosfor Chema Diagnostica lot 06-023, total protein Chema Diagnostica lot 02-106, albumin Chema Diagnostica lot 02-036, VLDL Dialab lot 002CT012, HDL Dialab lot 001CL010, LDL Dialab lot 002CK003 kitleri kullanılarak Olympus AU400 system otoanalizör'de spektrofotometrik olarak saptandı.

Araştırma dönemlerinin 18. gününde sabah yemlemesinden 2, 4, 6, 8 saat sonra alınan 100 ml rumen sıvılarından 50 ml'si ayrıldıktan sonra Hanna model pH metre kullanılarak bunlarda zaman geçirilmeksizin pH ölçümleri yapıldı.

NH<sub>3</sub>-N (amonyak azotu) ve Uçucu Yağ Asiti (UYA) düzeylerini belirlemek amacıyla 2'şer adet 10 ml rumen sıvısı alınarak içerisinde 1/1 oranında sulandırılmış içerisinde 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bulunan tüplere konuldu ve derin dondurucuda analizleri yapılınca kadar saklandı. Daha sonra bu numuneler santrifüj edildi. Bunlardan birinde Markham<sup>110</sup>

distilasyon metodu ile NH<sub>3</sub>-N tayin edildi. Bunun için H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenmiş ve santrifüj edilmiş rumen süzüntüsünden 5 ml alınarak kjeldahl tüpüne konuldu. Kjeldahl tüpünün üstüne 100 ml saf su ilave edilerek distilasyon ünitesine yerleştirildi. Kjeldahl tüpüne %40'lık NaOH çözeltisinden 50 ml aktarıldı. Azot tutulumunu sağlamak amacıyla da 50 ml %2'lik borik asit ve üzerine de 2, 3 damla metil kırmızısı konularak distilasyon ünitesine yerleştirildi ve 6 dk süreyle distilasyon yapıldı. En son olarak N/70'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile titrasyonu yapılarak aşağıdaki formül yardımıyla rumen NH<sub>3</sub>-N hesaplandı<sup>110</sup>.

$$\text{NH}_3\text{-N(mg/100ml)}=\text{Harcanan N/70 H}_2\text{SO}_4 \text{ (ml)}\times 0.2\times 100/\text{Numune Miktarı (ml)}$$

Uçucu Yağ Asidi analizini yapmak için H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenmiş ve santrifüj edilmiş rumen süzüntüsünden 5ml alınarak filtre kağıdından sonrada millex-HV 0.45 µm, 1'lik plastik filtreden süzülüp 1.5 ml'lik viallere konuldu. Rumen sıvısında UYA miktarları Agilent 1100 marka HPLC cihazında ve Alltech OA-1000 marka ayırıcı organik asit kolonu kullanılarak tespit edildi.

Araştırma dönemlerinin 20. gününde sabah yemlemesinden 2, 4, 6, 8 saat sonra rumen sondası aracılığıyla alınan 50 ml rumen sıvılarında rumen protozoalarının sayımı Boyne ve ark.<sup>111</sup> tarafından modifiye edilen yöntem ile yapıldı.

Protozoa sayım solüsyonunun hazırlanması için 150 ml gliserin 820 ml distile su, 20 ml formol (%37 'lik) karışımı oluşturuldu. Rumen sondası aracılığıyla şişelere alınan rumen sıvıları zaman geçirilmeden 37° C 'lik su banyosunda laboratuara getirilerek, 10 ml'lik mezürlere cam huni ve çift kat mermer şahi bezden süzüldü. Bu süzüntüden 1 ml alınarak 49 ml sulandırma solüsyonu ile 50 ml'ye tamamlandı. Bu karışımdan 1ml alınarak Mak-Master lamının kamarası dolduruldu. Lam mikroskop tablasına

yerleştirilerek sıvının çökmesi için birkaç dakika beklendi. 10'luk veya 40'luk büyütme ile 2'şer dikdörtgenlik mikroskop alanları sayılarak aşağıdaki formül yardımıyla protozoa sayıları belirlendi.

$$\text{1ml'deki protozoa sayısı: } \frac{\text{Sayılan Protozoa Sayısı (SPS)} \times \text{Sulandırma Oranı} \times \text{Hacim}}{\text{Sayılan Kısımın Hacmi}}$$

$$\text{1ml'deki protozoa sayısı: } \frac{\text{SPS} \times 50 \times 1000}{150}$$

### 3.2.4. İstatistiksel Analizler

Araştırmada bütün ham veriler, 4x4 Latin Kare deneme planına göre elde edilerek, tek yönlü varyans analizine tabi tutuldu. Veriler SAS paket programında analiz edildi<sup>112</sup>. Bu amaçla elde edilen sonuçların gruplara ait istatistiksel hesaplamaları ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel bakımdan önemli olup olmadığı tek yönlü varyans analizi metoduna göre tespit edildi<sup>114</sup>. Humat seviyelerinin ortalamaları arasındaki farklılığın belirlenmesi için Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı<sup>113</sup>.

$$y_{ij} = \mu + a_i + e_{ij}$$

$y_{ij}$ : i. humat seviyesi ve j. tekerrürden elde edilen cevap değişkeni

$\mu$ : populasyon ortalaması

$a_i$ : i. humat seviyesinin tesir payı

$e_{ij}$ : i. humat seviyesi j. tekerrüre ait hata payı

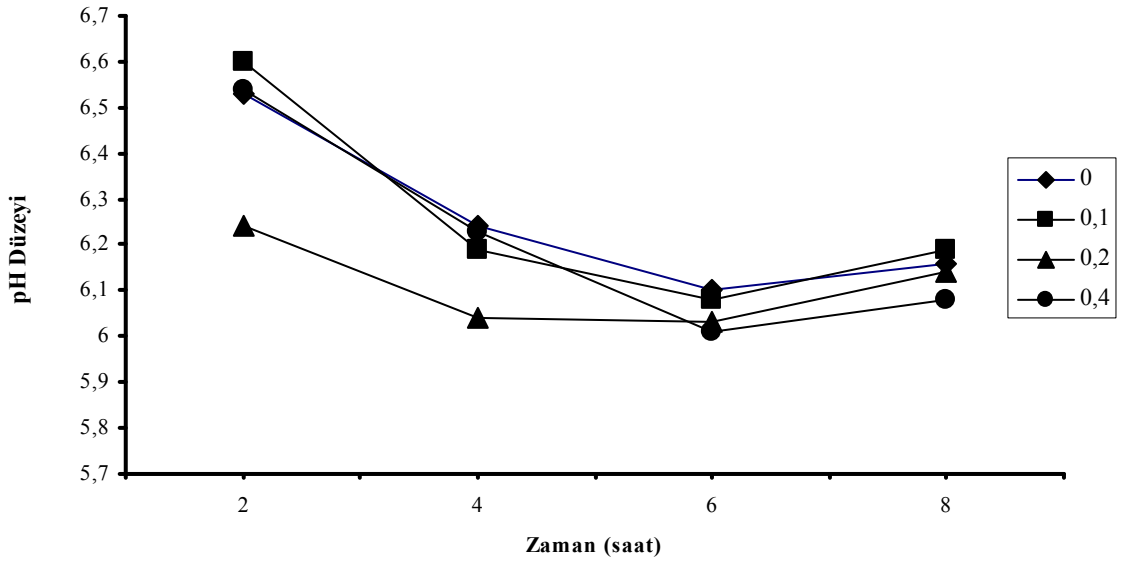
#### 4. BULGULAR

Araştırmada rumen sıvısı pH değerleri Tablo 5 ve Grafik 1’de, rumen sıvısı NH<sub>3</sub>-N düzeyleri Tablo 6 ve Grafik 2’de sunulmuştur. Rumen sıvısı Toplam Uçucu Yağ Asitleri (TUYA) ve Uçucu Yağ Asitleri (UYA) oranları Tablo 7’ de protozoa sayıları Tablo 8 ve Grafik 3’de, kan serumu değerleri ise Tablo 9’da verilmiştir.

**Tablo 5.** Sabah Yemlemesi Sonrası Saatlere Göre Rumen Sıvısı pH Değerleri

Humat düzeyi, %	Saatler			
	2	4	6	8
0	6.53	6.24	6.10	6.16
0,1	6.60	6.19	6.08	6.19
0,2	6.24	6.04	6.03	6.14
0,4	6.54	6.23	6.01	6.08
Önem Durum	0.247	0.318	0.521	0.570
SEM	0.129	0.079	0.048	0.061

n:4

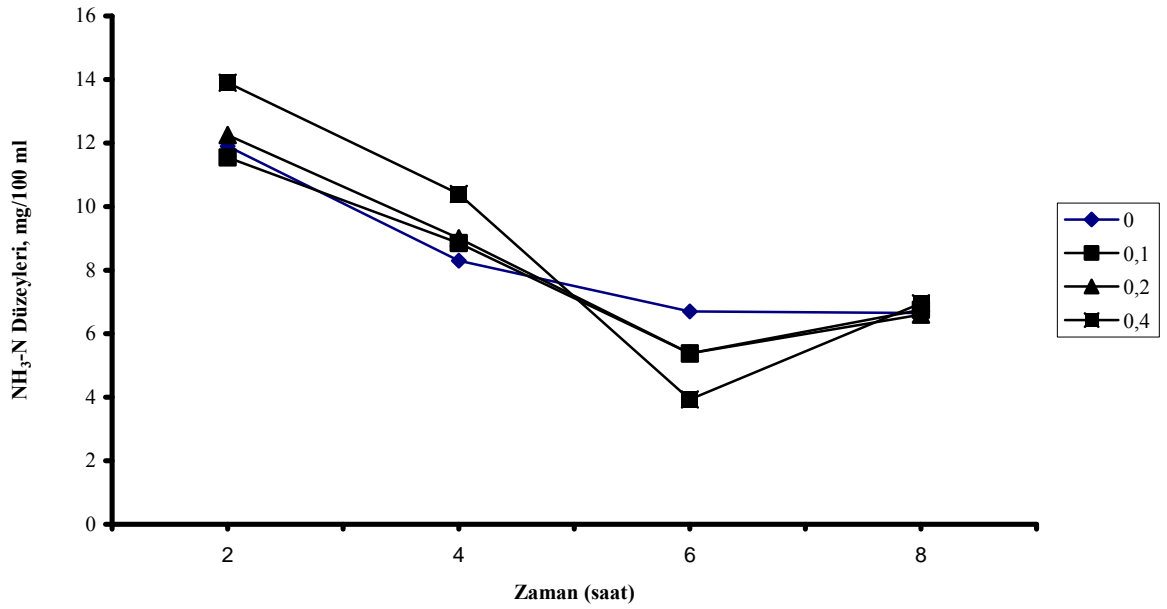


**Grafik 1.** Yemleme Sonrası Rumen Sıvısı pH Düzeyleri

**Tablo 6.** Sabah Yemlemesi Sonrası Saatlere Göre Rumen Sıvısı NH<sub>3</sub>-N Düzeyleri (mg/100ml)

Humat düzeyi, %	Saatler			
	2	4	6	8
0	11.90	8.30	6.70	6.65
0,1	11.55	8.85	5.38	6.75
0,2	12.25	9.00	5.38	6.60
0,4	13.90	10.40	3.93	6.96
Önem Durumu	0.517	0.531	0.946	0.994
SEM	1.162	1.016	1.807	0.970

n:4



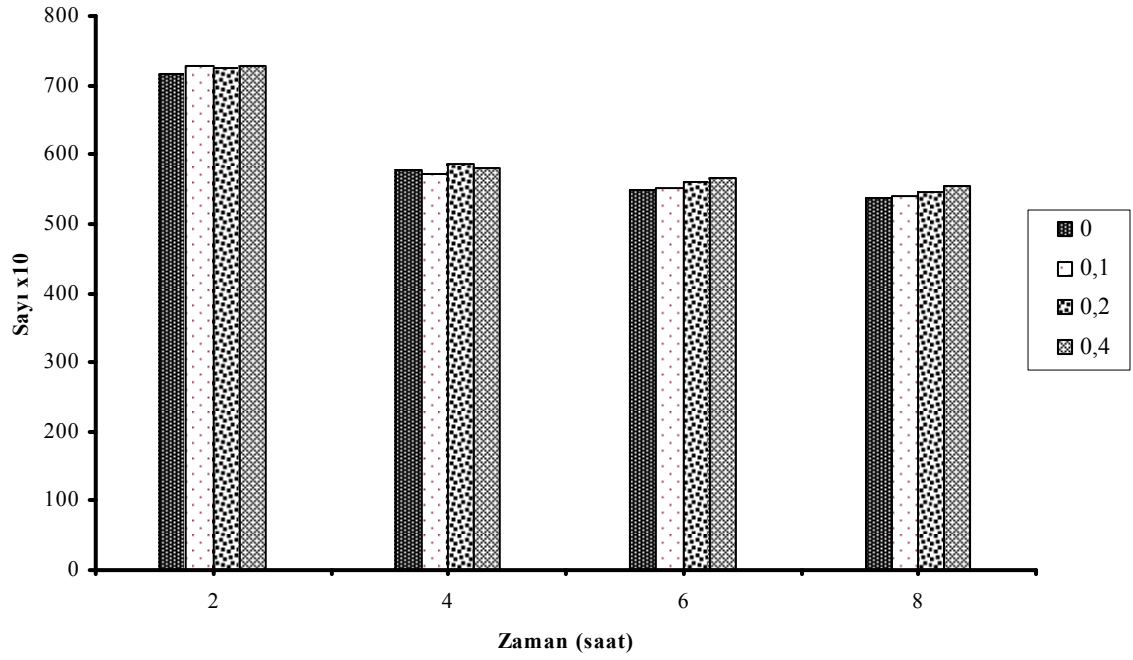
**Grafik 2.** Yemleme Sonrası Rumen Sıvısı NH<sub>3</sub>-N düzeyleri, mg/100ml

**Tablo 7.** Sabah Yemlemesi Sonrası Saatlere Göre TUYA (mmol/l) ve UYA Değerleri (%)

Humat Düzeyi %	<b>2.saat</b>				
	TUYA, (mmol/l)	Asetik Asit, %	Propiyonik Asit, %	Bütirik Asit, %	Asetik / Propiyonik Oranı
0	107.81	71.87	16.72	11.28 <sup>a</sup>	4.42
0,1	109.86	80.28	16.21	3.42 <sup>b</sup>	5.02
0,2	119.38	73.44	21.98	4.44 <sup>b</sup>	4.06
0,4	117.80	75.83	18.47	5.52 <sup>b</sup>	4.35
Önem Durumu	0.185	0.216	0.487	0.016	0.820
SEM	4.165	2.798	2.810	1.540	0.772
<b>4. saat</b>					
0	77.00	76.53	17.33	6.02	4.91
0,1	81.15	78.71	17.84	3.35	5.04
0,2	80.87	72.73	22.71	4.45	3.33
0,4	82.96	79.72	15.68	4.43	5.15
Önem Durumu	0.772	0.623	0.253	0.832	0.419
SEM	4.083	3.973	2.427	2.040	0.851
<b>6. saat</b>					
0	78.28	77.44	16.67	5.76	4.99
0,1	80.76	77.18	16.84	5.88	4.91
0,2	83.52	80.39	16.17	3.35	5.27
0,4	85.28	78.42	16.46	5.02	4.80
Önem Durumu	0.728	0.907	0.994	0.844	0.976
SEM	4.629	3.443	1.797	2.333	0.781
<b>8.saat</b>					
0	78.02	79.21	15.76	4.89	5.26
0,1	79.27	78.77	14.49	6.60	5.61
0,2	80.28	74.86	18.93	6.05	4.03
0,4	80.02	78.98	16.74	4.19	4.85
Önem Durumu	0.934	0.695	0.276	0.934	0.282
SEM	2.711	2.956	1.554	2.921	0.561

a, b, Aynı sütunda ayrı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05)

Humat düzeyi, %	Saatler			
	2	4	6	8
0	716,33	576,50	549,00	536,75
0,1	728,25	572,58	551,50	540,58
0,2	723,83	586,00	560,42	547,17
0,4	727,08	580,17	566,00	554,25
Önem Durumu	0.911	0.953	0.897	0.964
SEM	12.79	17.20	17.82	25.68



**Grafik 3. Rumen Sıvısı Protozoa Sayıları, x10<sup>3</sup>**



**Tablo 9.** Bazı Kan Serumu Değerleri

Parametreler	Humat Düzeyi, %				SEM	Önemlilik
	0	0.1	0.2	0.4		
Total Protein, g/dl	7.30	7.08	7.03	7.18	0.327	0.936
Albumin, g/dl	4.83	4.15	4.28	3.98	0.372	0.436
Trigliserid, mg/dl	94.38	98.975	104.45	100.33	11.181	0.935
Glikoz, mg/dl	94.00	91.80	86.70	80.33	7.612	0.605
Kolesterol, mg/dl	177.98 <sup>a</sup>	110.90 <sup>b</sup>	133.75 <sup>b</sup>	132.02 <sup>b</sup>	13.494	0.027
Kalsiyum, mg/dl	8.80	8.68	9.23	8.55	0.602	0.869
Fosfor, mg/dl	4.13	4.33	4.42	3.95	0.318	0.727
VLDL, mg/dl	20,85	19.73	18.88	20.15	2.230	0.936
LDL, mg/dl	159.08 <sup>a</sup>	91.03 <sup>b</sup>	127.90 <sup>ab</sup>	111.85 <sup>b</sup>	12.115	0.012
HDL, mg/dl	18.48 <sup>b</sup>	17.88 <sup>b</sup>	23.48 <sup>a</sup>	24.25 <sup>a</sup>	1.511	0.020

VLDL; çok düşük yoğunluklu lipoprotein LDL; düşük yoğunluklu lipoprotein HDL; yüksek yoğunluklu lipoprotein  
a, b, Aynı satırda ayrı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

## 5. TARTIŞMA SONUÇ

Verim artırıcı olarak humat preparatlarının gerek kanatlılarda gerekse ruminantlarda kullanımı oldukça yenidir. Organik yapıları nedeniyle gelecekte çok fazla kullanılabilceği düşünölen humat preparatlarının hayvanlar üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışma sayısı kanatlılarda biraz daha fazla olmasına karşın ruminantlarda yok denecek kadar azdır.

Bu çalışmada, humatların rumen fermantasyonu, rumen protozoa sayıları ve bazı kan değerleri üzerine etkileri araştırılarak, ruminatlarda performans üzerine olabilecek etkilerine ışık tutabilmek amaçlanmıştır.

Yapılan literatür taramasında humatların hayvanlarda performans üzerine etkilerinin incelendiği çok fazla çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu konuda yapılan az sayıdaki çalışmanın büyük çoğunluğu da kanatlılarda yapılmış çalışmalardır. Ruminatlarda konu ile ilgili yapılmış az sayıdaki çalışmada da daha çok verim kriterlerine bakılmış, humatların rumen fermantasyonu ve kan parametreleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya ulaşılamamış, çalışmadan elde edilen verilerin tartışılmasında diğer yem katkı maddelerinin etkilerinin araştırıldığı çalışmalar kullanılmıştır.

Yapılan bu çalışmada sabah yemlemesinden 2, 4, 6 ve 8 saat sonra rumen sıvılarının pH değerleri Tablo 5 ve Grafik 1’de gösterilmiştir. Örnek alma zamanlarının tümünde kontrol grubu ile farklı seviyelerde humat içeren gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir. Ruminantlarda verim artırıcı olarak probiyotiklerin<sup>114-117</sup> ve organik asitlerin<sup>43,44,118,119</sup> etkilerinin incelendiği çalışmalarda rumen pH’sının katkılardan önemli derecede etkilenmediği bildirilmekle beraber, organik asitlerin rumen pH’sını artırdığını bildiren çalışmalar da<sup>42</sup> bulunmaktadır. Tablodan da

görüldüğü gibi gruplarda rumen sıvısı pH değerleri 6.01 ile 6.54 arasında değişmektedir. Rumende optimum mikrobiyal protein sentezi ve selüloz sindirimi için pH'nın 6.0-6.8 aralığında olmasının gerektiği bildirilmekte<sup>120</sup>, bu çalışmadan elde edilen pH değerlerinin normal sınırlar içinde seyrettiği görülmektedir. Grafik 1'den çalışma boyunca gruplarda pH'nın seyri incelendiğinde, humatlı gruplarda pH'nın kontrol grubuna göre özellikle yemlemeden sonraki 4 ve 6. saatlerde bir miktar azaldığı ama bu azalmanın istatistiksel önem boyutuna ulaşmadığı görülmektedir. Bütün gruplarda yemlemeden 2 saat sonraki pH düzeyleri 4. saatte azalma eğilimi göstermiş bu eğilim 6. saatte de devam etmiş, akşam yemlemesine yakın 8. saatte ise bir miktar artmıştır. Bütün örnekleme zamanlarında rumen sıvısı pH değerleri koyunlar için bildirilen normal değerler arasında çıkmıştır.

Çalışmada Tablo 6 ve Grafik 2'den görüldüğü gibi bütün örnekleme zamanlarında rumen sıvısı NH<sub>3</sub>-N miktarları kontrol ve humat grupları arasında benzer bulunmuş, humatların rumen sıvısı NH<sub>3</sub>-N'na önemli bir etkisi olmamıştır (p>0.05). Sabah yemlemesinden sonraki 2. saatte de %0 ve %0.1 humatlı gruplarda sırasıyla 11.90 ve 11.55 mg/100 ml olan NH<sub>3</sub>-N düzeyleri %0.2, %0.4 humatlı gruplarda rakamsal olarak bir miktar yükselerek sırasıyla 12.25 ve 13.90 mg/100 ml olarak gerçekleşmiştir. Diğer örnek alma zamanlarında gruplarda rumen sıvısı NH<sub>3</sub>-N düzeyleri düzensiz bir seyir izlemiştir. Bütün gruplarda sabah yemlemesinden sonraki 2. saat rumen sıvısı NH<sub>3</sub>-N düzeyleri 4. saatte genel olarak düşmüştür. Bu düşüş 6. saatte de devam etmiş 8. saatte ise bir miktar artmıştır (Grafik 2). Ancak NH<sub>3</sub>-N miktarlarında görülen bu artış ve azalışlar istatistiksel önem boyutuna ulaşmamıştır (p>0.05). Benzer şekilde probiyotiklerin<sup>114,121-123</sup>, prebiyotiklerin<sup>124-127</sup> ve organik asitlerin<sup>44,111</sup> kullanıldığı ve rumen NH<sub>3</sub>-N'nun muamelelerden önemli derecede etkilenmediğini bildiren birçok

çalışmaya karşılık maya kültürlerinin NH<sub>3</sub>-N düzeyini artırdığını bildiren çalışmalar da<sup>128,129</sup> mevcuttur.

Toplam Uçucu Yağ Asitleri (TUYA) ve TUYA içinde asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve asetik asit/propiyonik asit oranları Tablo 7 gösterilmiştir. Sabah yemlemesinden sonraki 2, 4, 6 ve 8. saatlerde kontrol (%0) grubuna kıyasla farklı seviyelerdeki humatların TUYA düzeyine önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. TUYA miktarları en düşük 77.00 mmol/l en yüksek 119.38 mmol/l olarak gerçekleşmiş, bu değerler benzer çalışmalardaki<sup>132</sup> değerlerle uyumlu olmuştur. TUYA miktarlarında humat katılmayan kontrol grubuna göre humat katılan gruplarda istatistiksel önem boyutuna ulaşmayan rakamsal artışlar olmuştur. Sabah yemlemesinden sonraki 2. saatteki TUYA miktarları genel olarak 4. saatte bir miktar düşmüş, 6 ve 8. saatlerde ise bu düşüş devam etmemiş ve TUYA miktarları benzer olmuştur. Literatür bildirişlerinde canlı maya kültürlerinin<sup>130</sup>, prebiyotiklerin<sup>124,125,127</sup>, organik asitlerin<sup>44,127</sup> TUYA düzeyine etki etmediği rapor edilmiştir. Ancak organik asitlerin TUYA miktarını artırdığını bildiren çalışmalara<sup>43,118</sup> rastlamak mümkündür. Toplam Uçucu Yağ Asitleri (TUYA) içinde asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit oranları incelendiğinde bütün zamanlarda yalnızca sabah yemlemesinden sonraki 2. saatte humatların bütirik asit oranlarına etkisi önemli bulunmuştur (p<0.05). Sabah yemlemesinden sonraki 2. saatte asetik asit oranları sırasıyla %71.87, 80.28, 73.44 ve 75.83 olmuştur. Özellikle %0.1 humat grubunun asetik asit düzeyi 2 ve 4. saatlerde diğer gruplardan hissedilir derecede yüksek olmuş ancak istatistiksel önem boyutuna ulaşmamıştır. Propiyonik asit düzeyleri de sırasıyla %16.72, 16.21, 21.98 ve 18.47 gerçekleşmiştir. Bütirik asit oranı 2. saatte kontrol grubunda (%11.28) diğer üç gruptan (%3.42, 4.44, 5.52) önemli derecede yüksek olmuştur (p<0.05). Humatlı grupların

bütirik asit düzeyleri ise benzer bulunmuştur. Bazı çalışmalarda mayalı rasyonların rumen bütirik asit düzeyini yükselttiği<sup>131,132</sup> bazılarının değiştirmediği<sup>133-135</sup> bildirilmiştir. Bütirik asit rumen duvarında keton cisimciklerine dönüştüğünden, rumende fazla oluşması durumunda ketozise yakalanma riski artmaktadır<sup>84,93</sup>. Sabah yemlemesinden sonraki 4, 6 ve 8. saatlerde asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit oranında gruplar arasında oluşan farklılıklar önemli çıkmamıştır. Çalışma sonucunda bütün örnekleme zamanlarında gruplar arasında asetik asit/propiyonik asit oranı bakımından önemli farklılıklar oluşmamıştır. Sniffen ve ark.<sup>118</sup> değişik seviyelerde uygulanan organik asitin rumen asetat, propiyonat ve bütirat miktarları üzerine etkisinin önemsiz olduğunu rapor etmişlerdir. Rumende asetik asitin az oluşması veya propiyonik asitin fazla oluşması durumunda asetat/propiyonat oranının azalmasına ve ileri safhada rumen asidozisinin oluşma riskinin artmasına sebep olabilmektedir.

Sabah yemlemesini takip eden 2, 4, 6 ve 8. saatlerde rumen protozoa sayıları kontrol ve humatlı gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli derecede farklılık göstermemekle birlikte, humatlı gruplarda kontrol grubundan bir miktar yüksek bulunmuştur (Tablo 8 ve Grafik 3). Sabah yemlemesini takiben 2 saatlik peryotlara göre protozoa sayılarının seyri dikkate alındığında 2. saatte en yüksek olan protozoa sayılarının deneme gruplarında 4, 6 ve 8. saatlerde, zamanla ters orantılı olarak azaldığı (Grafik 3) saptanmıştır. Rumen içeriği toplam protozoa sayısına probiyotklerin etkisi üzerine çelişkili bildirişler vardır. Canlı maya kültürlerinin bu sayıyı arttırdığı<sup>136-137</sup>, gerek canlı maya kültürü<sup>114,130</sup>, gerekse prebiyotiklerin<sup>124,126</sup> protozoa sayısını değiştirmediğini bildiren çalışmalarda mevcuttur.

Araştırma sonucunda kan parametrelerine ilişkin olarak elde edilen veriler Tablo 9'da sunulmuştur. Serum Total Protein, Albumin, Trigliserit, Glikoz, Kalsiyum ve

Fosfor miktarlarının humat ilavesinden etkilenmediği ( $p>0.05$ ) saptanmıştır. Total protein miktarları 6.03 ile 6.30 g/dl arasında bulunmuş olup, koyunlar için bildirilen normal değerlerle uyumlu olmuştur<sup>138,139</sup>.

Diğer parametrelerde olduğu gibi trigliserit düzeyleri bakımından da gruplar arasında görülen farklılıklar önemsiz bulunmuştur. Rumen sıvısı asetik asit konsantrasyonunun artması ile kandaki yağ oranının yükselmesi arasında yüksek bir korelasyonun olduğu<sup>140</sup>, bunun da rumende oluşan fermentasyon sonucunda ortaya çıkan etanolün karaciğerde asetik asite çevrilirken, yağ asitleri sentezinde görevli ve hücre içinde düşük düzeyde bulunan koenzimlerin miktarında artışa neden olmasıyla gerçekleştiği bildirilmektedir. Bu koenzimler yağ asiti sentezi sırasında, yağ dokularından yağ asitlerinin ayrılmasını ve karaciğerde birikimlerini sağlamaktadırlar. Asetik asitin ve dolaylı olarak ta yağ asitlerinin vücuttaki artışları propiyonik asitin azalmasına ve enerji metabolizmasında keton cisimciklerinin oluşmasına neden olmaktadır. Çalışmada gruplar arasında rumen asetik asit oranının benzer olması ve aralarındaki yüksek korelasyon nedeniyle serum trigliserit düzeyinin de benzer çıkması beklenen bir sonuçtur.

Serum glikoz düzeyleri 80.33- 94.00 mg/dl değerleri arasında değişmiş ve gruplar arasında farklılık olmamıştır. Çalışmada gruplar arasında glikozun ön maddelerinden olan propiyonik asitin rumen sıvısındaki konsantrasyonunun birbirine yakın olması bu sonucun ortaya çıkmasında etkili olmuştur.

Araştırmada kontrol ve humatlı gruplar arasında gerek kalsiyum gerekse fosforun serumdaki miktarları bakımından istatistiksel farklılıklar gözlenmemiştir. Gruplarda serum kalsiyum miktarları 8.55-9.23 mg/dl, fosfor miktarları ise 3.95-4.42 mg/dl

arasında değişmiştir. Çeşitli literatürlerde koyunlarda kan serumu kalsiyum düzeyinin 9-13 mg/dl, fosfor düzeyinin ise 4.0-8.0 mg/dl arasında değiştiiği bildirilmektedir<sup>141-144</sup>.

Kolesterol ile ilgili parametrelerden VLDL (çok düşük yoğunluklu lipoprotein) miktarı bakımından humatlı gruplarda kontrol grubuna göre rakamsal olarak, LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) ve kolesterol miktarında da istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) derecede düşüş sağlamıştır. Ayrıca HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) miktarlarında %0.2 ve 0.4 humatlı gruplar önemli derecelerde artış sağlamış, bu iki grubun HDL miktarları benzer bulunmuştur. Kolesterol miktarları %0, 0.1, 0.2 ve 0.4 humatlı gruplarında sırasıyla 177.98, 110.90, 133.75, 132.02 mg/dl, LDL miktarları aynı sırayla 159.08, 91.03, 127.90, 111.85 mg/dl, HDL miktarları ise 18.48, 17.88, 23.48 ve 24.25mg/dl olarak saptanmıştır. Yapılan literatür taramasında humatların hayvanlarda kan parametreleri üzerine etkilerinin incelendiği çok az çalışmaya rastlanılmıştır. Ruminatlarda konu ile ilgili herhangi bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Humat katkılı yemle beslenen ratlarda total kolestrol, total lipid ve glikoz seviyelerinin azaldığı, HDL, globulin, hemoglobin, hematokrit ve eritrosit sayısının arttığı bildirilmiştir<sup>71</sup>. Kümes hayvanlarında yapılan bir çalışmada humat katkılı yemle beslemeden sonra kanda bazı önemli minarellerde (Ca, Al ve Fe) artış sağlandığı bildirilmiştir<sup>58</sup>. Organik astlerin kullanıldığı bir çalışmada<sup>144</sup>, organik asit uygulamasının çalışmanın tamamı dikkate alındığında kan parametrelerinden total protein ve kolesterol miktarını düşürdüğü, total lipid miktarını etkilemediği, mineral maddelerden kalsiyum, fosfor, bakır, mağnezyum düzeyini değiştirmediiği, çinko miktarını ise arttırdığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu araştırma için, farklı seviyelerdeki humatların rumen sıvısı metabolitleri ile rumen protozoa sayısına önemli bir etkisinin olmadığı, kan

parametrelerini de büyük oranda etkilemediği, serum kolesterol düzeyini önemli derecede düşürdüğü, iyi kolesterol olarak bilinen HDL'yi artırdığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada değişik seviyelerdeki humatların incelenen parametrelere önemli etkilerinin olmaması humat preparatlarının ruminantlarda verim artırıcı olarak kullanılmayacağı anlamına gelmemelidir. Unutulmamalıdır ki bu tür verim artırıcıların etkileri ve etkinlikleri hayvan, çevre şartları, saklanma şartları, mevsim şartları, yetiştirme şartları gibi bir çok faktöre göre değişmektedir. Literatür taranmasında humatlarla aynı konuda yapılmış çalışmaya rastlanılmaması, humatların ruminantlarda verim artırıcı olarak kullanımının çok yeni olduğunu, hayvanlar üzerindeki etkilerinin ve etkinliklerinin ortaya çıkarılabilmesi için çok sayıda araştırma yapılmasının gerekli olduğunu ortaya koymuştur.



## 6. KAYNAKLAR

1. Erkek R. Yem Katkı Maddelerinin Gelişimi ve Kullanımı. Yem Sanayi Derg. 1991; 73:19-23.
2. Işık N. Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvan Besleme (Ruminantların Beslenmesi). II. Baskı. A.Ü. Ziraat Fak. Yayın No: 1444. Ders Kitabı: 425. A.Ü. Ziraat Fak. Halkla İlişkiler ve Yayın Ünitesi, Ankara 1996.
3. Eren M. Verim Artırıcılarda Son Gelişmeler. Yavuz HM. (ed.) Çiftlik Hayvanlarının Beslenmesinde Temel Prensipler ve Karma Yem Üretiminde Bazı Bilimsel Yaklaşımlar. 2001; 361-374.
4. Cömert N. Mısır-Soya Esaslı Etlik Erkek Hindi Yem Karmalarına Katılan Avilamycin, Bio-Moss, Cylactin, Yucca Schidigera Ekstraktının Besi Performansı, Kesim Sonuçları İle Bazı Kan ve Bağırsak Parametreleri Üzerine Etkileri. AÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı. Doktora Tezi. Ankara 2004.
5. Ensminger ME. Poultry Sci. 3<sup>rd</sup> edition. Interstate Pub, Danville, IL. 1992; 108-109.
6. Ferket PR. Managing Gut Health in World antibiotics. Proceeding from Alltech's 17<sup>th</sup> European Middle Eastern and Africa Lecture Tour. 2003; 19-25.
7. Zimber A and Visek WJ. Effect of urease injections on DNA synthesis in mice. American Journal Physiology. 1972; 223: 1004.
8. Church DC, Pont WG. Basic Animal Nutrition and Feeding. 3<sup>rd</sup> Edition. New York 1988.
9. Türker H. Tavukçulukta Üretimi Ucuzlaştırıcı Katkılardan Yararlanma Olanakları. VI. Hayvancılık ve Besleme Sempozyumu. Konya 23-25 Ekim 1995; 119-144.
10. Ensminger ME, Oldfield JE, Heinemann WW. Feeds and Nutrition Second Edition The ensminger publishing company. California 1990; 505-509.

11. Greenberg RA. Antibiotics in Animal Feed. This Report was written by Greenberg, RA. Bibliography. 1985; 24-27.
12. Nir A, Şenköylü N. Kanatlılar için Sindirimi Destekleyen Yem Katkı Maddeleri. Enzimler, Probiyotikler, Antibiyotikler, Adsorbanlar, Organik asitler. Anadolu Matbaası, İstanbul 2000; 213.
13. Pal PUC. Probiotics Benefits. Poultry International. 1999; 38(12); 40-42.
14. Gedek BR. Mode of actions of probiotics in poultry diets. 12<sup>th</sup> European Symposium on Poultry Nutrition Proceedings. Veldhoven. The Netherlands 15-19 Ağustos 1999.
15. Sainsbury DBW. Protecting against Stress Misset. World Poultry. 1991; 8(10); 47-49.
16. Garcia JLA, Castrejon FA, Mendoza GD, Gavilan EPP. Effect of two commercial yeast cultures with *S. Cerevisiae* on ruminal fermentation and digestion in sheep. Livestock production Sci. 2000; 63. 153-157.
17. Weidmeier RD, Arambel MJ, Walters JL. Effects of Yeast Culture Fermentation Extract on Ruminal Characteristics and Nutrients Digesibility. J. Dairy Sci. 1987; 70: 2063-2070.
18. Willams PEU, Newbold CJ. The Effect of Novel Microorganisms on Rumen Fermentation and Ruminant Productivity, in: Haresing, Anim. Nutr. 1990; 211-217.
19. Lee SS, Ho J, Cheng KJ. Influence of an Anaerobic Fungal Culture Administration on Invivo Ruminal Fermentation and Nutrient Digestion Anim. Feed Sci. and Tech. 2000; 88: 201-217.

20. Guillot JF. The Pros and Cons of Probiotics-Make Probiotics Work for Poultry. World Poultry. 2000; 16: 18-21.
21. Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S. Probiotics in poultry: Modes of action. World's Poultry Sci. J. 1997; 53: 351-368.
22. Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S. Probiotics in Poultry: Modes of Action. World's Poultry Sci. J. 1997; 53: 351-368.
23. Yalçın S, Çiftçi İ, Önel AG, Yılmaz A. Yem Katkı Maddelerinde Gelişmeler. 3. Uluslararası Yem Kongresi ve Yem Sergisi. Ankara 1-3 Nisan 1996.
24. Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S. Digestive and Bacterial Enzyme Activities in Broilers Fed Diets Supplemented with Lactobacillus Cultures. Poult. Sci. 2000; 79: 886-891.
25. Güneş H, Cerit H, Altınel A. Etlik Piliçlerin Verim Özellikleri Üzerine Probiyotik (Fermacto 500) Etkisi. İstanbul üniv. Vet. Fak. Derg. 2001; 27(1): 217-220.
26. Panda AK, Rao SVR, Reddy MR, Praharaç NK. Effect of Dietary Inclusion of Probiotic on Growth, Carcas Traits and Immune Response in Broilers. Indian J. Poult. Sci. 1999; 34(3): 343-346.
27. Eren M, Deniz G, Biricik H, Gezen Ş, Türkmen İ, Yavuz HM. Broyler Yemlerine Zinc Bacitracin, Probiyotik ve Mannan-oligosakkaritlerin katkısının Besi Performansı Üzerine Etkileri. Uludağ Üniv. Vet. Fak. Derg. 1999; 18(3):73-84.
28. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. J.Nutr. 1995; 125: 1401-1412.
29. Houdijk J. Effects of non-digestible oligosaccharides in young pig diets. Wageningen University Dissertation Abstract, WAU dissertation no. 2550. 1998.

30. Moro GE, Stahl B, Fanaro S, Jelinek J, Boehm G& Copa GV. Dietary Prebiotic Oligosaccharides are Detectable in The Faeces of Formula-Fed Infants. *Acta Paediatr.* 2005; 94 (Suppl.): 27-30.
31. Veereman-wauters G. Applications of Prebiotics in Infant Foods. *Br J. Nutr.* 2005; 93 (Suppl.1): 57-60.
32. Spring P. The Effect of age and Environment on The Avian Gastrointestinal Microflora And its Role in the Development of Competitive Exclusion Products. *Feed Compounder.* 1998; 18, 1, 16-20.
33. Flickinger EA, Fahey GC. Pet Food and Feed Applications of Inulin, Oligofructose and Other Oligosaccharides. *British J. of Nutrition.* 2002; 87(Suppl.2); 2997-3000.
34. Iji PA, Tivey DR. The Use of Oligosaccharides in Broiler Diets. In: Proceedings of the 12 European Symposium on Poultry Nutrition. World's Poultry Sci. Association, Dutch Branch. Veldhoven, the Netherlands 15-19 Augustos 1999.
35. Niness KR. Inulin and Oligo Fructose: What are they? *J. Nutr.* 1999; 129 1402-1406.
36. Waldroup AL, Skinner JT, Hierholzer RE, Waldroup PW. An Evaluation of Fructooligosaccharide in Diets for Broiler Chickens and Effects on Salmonellae Contamination of Carcasses. *Poultry Sci.* 1993; 72; 643-650.
37. Iji PA and Tivey DR. Natural and Synthetic Oligosaccharides in Broiler Chicken Diets. *World's Poultry Sci. Association.* 1998; 54(2); 129-143. İnternet erişim: "[http://www.pjbs.org/ansinet/pjbs/journal/1999/toc2\(2\)htm](http://www.pjbs.org/ansinet/pjbs/journal/1999/toc2(2)htm)"
38. Peterson CB. Feeds With Antibiotic Growth Promoters – The Oligosaccharide Alternative. Kyle Newman, Ph.D. Director of Laboratories Alltech Biotechnology Center. 1998; 21-26.

39. Kumprecht I, Zobac P, Siske V, Sefton AE, Spring P. Effect of Dietary Mannanligosaccharide Level on Live Weight and Feed Efficiency of Broilers. In: Proceedings of the Int. Sym. on Nondigestible Oligosaccharides. Graduate School Vlag, Wageningennl 1997; 144.
40. Çakmakçı ML, Karahan AG. Broyler Gelişiminde Laktobasillerin Önemi. VIV. Poultry Yutav'99 Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı. İstanbul 1999; 536-544.
41. Canibe N, Engberg RM, Jensen BB. An Overview of the Effect of Organic Acids on Gut Flora and Gut Health. J. Anim. Sci. 2001; 79:2123-2133.
42. Jalc D, Ceresnakova Z. Effect of plant oils and aspartate on rumen fermentation in vitro Anim. Physiol. Anim. Nutr. 2001; 85: 378-384.
43. Kung L, Huber Jr JT, Krummrey JD, Allison L, Cook RM. Influence of adding malic acid to dairy cattle rations on milk production, rumen volatile acids, digestibility and nitrogen utilization. J. Dairy Sci., 1982; 65:1170-1174.
44. Carro MD, Ranilla MJ. Effect of the addition of malate on in vitro rumen fermentation of cereal grains. Br J Nutr. 2003; 89: 279-288.
45. Demirel R, Gürbüz Y. Karma Yemlerde Enzim Kullanımı. VIV. Poultry Yutav'99 Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı. İstanbul 1999; 489-495.
46. Cowan WD. Advances in Feed Enzyme Technology. Agro-Food Industry. Hi-Tech. May/June 1992: 9-11.
47. Hotten P. Enzymes as Feed Additive. Feed Mix. Mayıs 1992; 9-12.
48. Sevgili H, Özen N, Ertürk MM. Arpa-Buğday Ağırlıklı Yıldırım Karma Yemlerinde Enzim Kullanımının Performansa Etkileri. VIV. Poultry Yutav'99

- Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı, İstanbul 1999; 617-625.
49. Ying JC, Chao SL, Tien SH, Mei LY, Fung JL. Humic Acid Induced Growth Retardation in a Sertol Cell Line, TM4. *Life Sci.* 2001; 69: 1269-1284.
50. Rung JG, Hsin LY, Jau LS, Fung JL. Induction of Oxidative Stres by Humic Acid through Increasing Intracellular Iron: Possible Mechanism Leading to Atherothrombotic Vascular Disorder in Blackfoot Diease. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2001; 283: 743–749.
51. Anonymous: Humic Acid Structure and Properties. 2003. Website Adresi: "<http://www.phelpstek.com/clients/humic-acid.html>" 30 Nisan 2007.
52. Pettit RE. Organic Matter, Humus, Humate, Humic Acid and Humin: Their Importance in Soil Fertility and Plant Health. 2007 Web site: [www.Humate.info.com](http://www.Humate.info.com) Erişim tarihi: 11 Nisan 2007.
53. Islam KMS, Schuhmacher A, Gropp JM. Humic Acid Substances in Animal Agriculture. *Pakistan J. Nutr.* 2005; 4(3): 126-134.
54. Eren M, Deniz G, Gezen SS, Türkmen I.I. Broyler Yemlerine Katılan Humatların Besi Performansı, Serum Minarel Konsantrasyonu ve Kemik Külü Üzerine Etkileri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 2000; 47: 255-263.
55. Gropp JM, Birzer D, Schuhmacher A. Vom Gesamtnutzen der Futterzusatz-stoffe; ein Beitrag zur Auflösung des Widerstreits von Ökonomie und Ökologie. *Schriftenreihe der Akademie für Tiergesundheit, Bonn, Band 3. Verlag der Ferber'schen Universitätsbuchha-ndlung Gießen.* 1992; 168-204.
56. Terratol .Effects of Humic Acid on Animals and Humans. <http://www.terratol.com>. 24 Mayıs 2006.

57. Faust RH. What is the Formula for Humic and Fulvic Acids? New Information!!  
Untitled article. 1998. "<http://www.bioag.com/whats-in-humates.html>" 14 Mayıs 2007.
58. Stepchenko LM, Zhorina LV, Kravtsova LV. The Effect of Sodium Humate on Metabolism and Resistance in Highly Productive Poultry. Nauchnye Doki Vyss Shkoly Biol. Mauki 1991; 10: 90-95.
59. Karaoğlu M, Macit M, Esenbuğa N, Turgut L, Aksakal N, Yörük MA Morkaraman Kuzularında Bovifarm'ın Performans Üzerine Etkisi. III. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi 7-10 Eylül Bildiriler Kitabı, Adana 2005; 425-428.
60. Livestock R. Field trials on Dairy Cattle. ENVIROMATE Inc. 8571 Boat. US 2003.
61. Teravita™, Humates in Poultry and Stock Farming. 2004  
"<http://www.teravita.com/Humates/>" Chapter 9.htm. Haziran 2007.
62. Bailey CA, White KE, Donke SL. Evaluation of Menefee Humate™ on the Performance of Broilers. B. Poult. Sci. 1996; 75(Suppl. 1): 84 (Abstr.).
63. Yoruk MA, Gul M, Hayırlı A, Macit M. The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. Poultry Sci. 2004; 83: 84-88.
64. Humin Tech. Huminfeed-Tierfutterzusätze and Laub R. 1998 Acute Systemic Toxicity Studies of Veterinär Medizin and Huminsäure Basierende Produkte. Humintech®Humintech GmbH, Heerdter Landstr. 189/D, D-40549 Düsseldorf, Germany, 2004. "<http://www.fulvic.de/049/animalfed/produkt/>" huminfeed.html

65. Yang HL, Chiu HC, Lu F. Effects of Humic Acid on the Viability and Coagulant Properties of Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Am. J. Hematol.* 1996; 51: 200.
66. Lotosh TD. Experimental Bases and Prospects for the use of Humic Acid Preparations from Peat in Medicine and Agricultural Production. *Nauchnye Doki Vyss Shkoly Biol. Nauki* 1991; 10: 99-103.
67. Kühnert VM, Bartels KP, Kröll S, Lange N. Huminsäurehaltige Tierarzneimittel in Therapie and Prophylaxe bei Gastrointestinalen Erkrankungen von Hund und Katze. *Monatshefte Vet. Med.* 1991; 46: 4-8.
68. Kreutz and Schlikekewey W. Effects of Implanted Bovine Calcium Hydroxyapatite with Humate. *Arch. Orthop. Trauma Surg.* 1992; 111: 259-264.
69. Maslinski C, Fogel WA, Andrzejewski W. An Examination of Humate Stimulated Liver Functions. *Acta Pol. Pharm.* 1993; 50(4-5): 413-416.
70. Dabovich LA, Hulbert L, Rudine A, Kim F, Ji S, McGlone JJ. Evaluation of nutraceutical effects on pig immunity: Effects of Promox. 2003 Southern Section ASAS meeting. Pork Industry Institute, Department of Animal and Food Science, TexasTech University, Lubbock TX 79409. 2003.
71. Banaszkiwicz W, Drobnik M. The Influence of Natural Peat and Isolated Humic Acid Solution on Certain Indices of Metabolism and of Acid-Base Equilibrium in Experimental Animals (In Polish). *Roczniki Panst Wowego Zakadu Higieny.* 1994; 45: 353-360.
72. Malinowska MH, Pietraszek D, Chabielska E. *Acta Pol. Pharm.* 1993; 50: 507-511.



73. Summers RS, Fuchs F, Sontheimer H. The Fate and Removal of Radioactive Iodine in the Aquatic Environment. In: Advances in Chem. Aquatic Humic Substances ((ed.) J.H. Suffet and P. McCarthy). 1989; 219: 623-636.
74. Seffner W, Schiller F, Heinze R, Breng R, Thiel KD, Klocking R, Schweizer H and Sprossig M. Subchronic Application of Humic Acids and Associated Compounds Provokes Histological Changes of Goitre in the Rat. *Exp. Toxic. Pathol.* 1995; 47: 63-70.
75. Enviromate<sup>TM</sup>. Effects of humic acid on animals and humans (literature review and current research). Effects of humic acid. Enviromate Inc. 8571 Boat Club Road, Forth Worth, Texas 76179. [http://www.enviromateinc.com/effect\\_sha.asp](http://www.enviromateinc.com/effect_sha.asp). 2002.
76. Huck TA, Porter N, Bushell ME. Effect of Humates on Microbial Activity. *Gen. Microbiol.* 1991; 137: 2321-2329.
77. Riede UN, Zeck-Kapp G, Freudenberg N, Keller HU, Seubert B. Humate Induced Activation of Human Granulocytes. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol. Pathol.* 1991; 60: 27-34.
78. Mosley R. Field Trials of Dairy Cattle. Nonpublished Research. Enviromate, Inc. August 1996.
79. Pukhova GG, Druzhina NA, Stepchenko LM, Chebotarev EE. The Influence of Natrium Humate on Animals Irradiated with Lethal Doses. *Radiobiologia.* 1987; 27: 650-653.
80. Laub R. The Chemically Induced Inhibition of HIV-1 Replication. Laub BioChem Corp. Haziran 1995. [www.laubiochem.com](http://www.laubiochem.com) <http://www.laubiochem.com/>. Natural Product and Synthetic Humates. Laub BioChem Corp, August 1998. [www.laubbiochem.com](http://www.laubbiochem.com) <http://www.laubbiochem.com/>. 3 Aralık 2006.

- 81.** Laub R. Laub developing humate with anti-HIV, HSV, HPV and other antiviral activity. Biotechnology Information Institute, Antiviral Drug and Vaccine Development Information, February 2000; 12, No. 2. ISBN 0897-9871.
- 82.** Knocking R. Interaction of Humic Acids and Humic Acid like Polymers with Herpes Simplex Virus Type 1. Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment. Berlin 1991; 408-412.
- 83.** Schultz H. Investigations on the Viricidaleffects of Humic Acids In Peat-Mull (in German). Deutsche tierarztliche Wochenschrift 1965; 72: 294-297.
- 84.** Coşkun B, Şeker E, İnal F. Hayvan Besleme Ders Notları. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi. Konya 1998.
- 85.** Bolat D, Coşkun B, Baytok E, Deniz S. Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Ders Notları. YYÜ. Vet. Fak. Van 1996.
- 86.** Bölükbaşı F. Fizyoloji Ders Kitabı. Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara 1989; Yayın No: 413.
- 87.** Dufva GS, Bartley EE, Dayton AD, Riddell DO. Effect of Niasin Supplementation on Milk Production and Ketosis of Dairy Cattle. J. Dairy Sci. 1983; 66, 2329-2336.
- 88.** Erasmus LJ, De Bruin HP, Grove JT, Neitz MH, Meissnen HH. Influence of Urea and Low Ruminale Degradable Protein Sources on Performance of High-Producing Dairy Cows. S. Afr. J. of Anim. Sci. 1986; 16( 4): 169-175.
- 89.** Hoover WH. Chemical Factors Involved in Ruminale Fiber Digestion. Dairy Sci. 1986; 69: 2755-2766.

- 90.** Durgun Z. Yerli Kara Besi Sığırlarında Uçucu Yağ Asitlerinin Metabolizması ve Bazı Metabolitler Arasındaki Fizyolojik İlişkiler. *Doğabilimleri Derg. Vet. Hay. Tar. Ornt.* 1990; 14: 55-71.
- 91.** Owens FN, Geotsch G. Ruminant Fermentation. *The Ruminant. Animal Digestive Physiology and Nutrition.* ((Ed) Church, D.C.) Waveland Press, Inc., Illinois, USA, 1998; 6.
- 92.** Ergün T, Tuncer ŞD. *Hayvan Besleme ve Besleme Hastalıkları.* Medipres. Ankara 2001.
- 93.** Hobson PN. *The Rumen Microbial Ecosystem.* Elsevier Applied Sci. London and New York 1988.
- 94.** Davis CL. *Feeding the High Producing Dairy Cow.* Milk Specialties Company, Illinois 1992.
- 95.** Deniz S, Coşkun B, İnal F, Şeker E, Işık K. Formaldehitte Muamele Edilen Soya küspesinin Danalarda Canlı Ağırlık Artışı ve Yemden Yararlanma ile Bazı Kan ve Rumen Sıvısı Metabolitleri Üzerine Etkisi. *Hayvancılık Araştırma Derg.* 1993; 3(1): 8-11.
- 96.** Özcan H. Ankara Keçilerinin Rumeninde UYA Üretimi Üzerine Farklı Protein Kaynakları ve Mineral Madde İlavesinin Etkileri. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Ankara 1990.
- 97.** Leng RA, Nolan JV. Protein Nutrition of the Lactating Dairy Cow. *J. Dairy Sci.* 1982; 67: 1072-1089.
- 98.** Mehrez AZ, Orskov FR, McDonald I. Rates of Rumen Fermentation in Relation to Ammonia Concentration. *Br. J. Nutr.* 1977; 38: 434-438.

99. McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD. *Animal Nutrition*. Third Edition. Longman Group Ltd. London 1981.
100. Özgen H. *Hayvan Besleme*. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Konya 1986; Yayın No: 5.
101. Eksen M, Durgun Z, Akmaz A, İnal Ş, Şeker E. Kuzularda Mikro Faunanın Kan Metabolitleri, Canlı Ağırlık Artışı, Yemden Yararlanma ve Karkas Özelliklerine Etkisi. *Doğa Turkish Journal of Vet. and Anim. Sci.* 1991; 15: 207-228.
102. Koenig KM, Neuvbold CJ, McIntosh FM, Rode LM. Effects of Protozoa on Bacterial Nitrogen Recycling in the Rumen. *Anim. Sci.* 2000; 78: 2431-2445.
103. Yaman K. *Fizyoloji*. Uludağ Üniv. Vet. Fak. Bursa 1987; Yayın No: 2.
104. NRC. National Research Council. *Nutrients Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Sheep*. 6th (Ed), National Academic Sci. Washington DC 1985.
105. Atasoy N, Taş A. Considerations for Gastrointestinal Cannulation (Rumen, Duodenum and İleum) in Sheep with a Ruminal, a Simple T-Type and a Modified T-Type Cannula. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 2003; 110, 269-308.
106. Düzgüneş O, Kesici T, Kavuncu O, Gürbüz F. *Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik Metotlar II)*. Ankara Üniv. Zir. Fak. Ankara 1987; Yayın No: 1021.
107. A.O.A.C. *Official Methods of Analysis of Agricultural Chemists*. Virginia, D.C. 1990: 1213.
108. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis D. Methods of Dietary Fiber Neutral Detergent Fiber and Non Starch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci.* 1991; 74: 3583-3597.
109. Georing HK, Van Soest PJ. *Forage Fiber Analyses. Apparatus, Reagent, Procedures and Applications*. USDA Agric. 1970; Handbook No. 379.

110. Markham RA. Steam Distillation Apparatus suitable for Micro-Kjeldahl Analyses. Biochem. J. 1942; 36: 790-797.
111. Boyne AW, Eadie JM, Raitt K. The development and testing of a method of counting rumen ciliate protozoa. J.Gen.Microbiol. 1957; 17: 414-423.
112. SAS Users Guide: Statistics, Version 8.02. SAS Inst. Inc. Cary, NC. 1999.
113. Duncan OB. Multiple F Tests. Biometrics. 1955; 11:1-42.
114. Aydın C, Galip N, Yaman Y, Cengiz F. Kaba ve Konsantre Yem Ağırlıklı Beslenen Kıvırcık Erkek Toklularda *Saccharomyces cerevisiae* Canlı Maya Kültürünün Rumen Sıvısı Metabolitleri ve Protozoonlar Üzerine Etkisi. Türk J. Vet. Anim Sci. 2003; 27: 1433-1440.
115. Doreau M, Jouany JP. Effect of a *Saccharomyces Cerevisiae* Culture on Nutrient Digestion in Lactating Dairy Cows. J. Dairy Sci., 1998; 81: 3214-3221.
116. Aydın C, Biricik H, Galip N, Türkmen İİ. *Saccharomyces cerevisiae* nin Süt İneklerinde Rumen Protozoonları, Rumen Sıvısı Sodyum, Potasyumu İle Toplam Uçucu Yağ Asitleri Üzerine Etkisi. U. Üniv. Vet. Fak. Derg, 2000; 19: 29-35.
117. Zelenak I, Jalc D, Kmet V, Siroka P. Influence of diet and yeast supplement on in vitro ruminal characteristics. Anim. Feed Sci. Technol. 1994; 49: 211-221.
118. Gomez JA, Tejido ML, Carro MD. Influence of disodium malate on microbial growth and fermentation in rumen-simulation technique fermenters receiving medium- and high-concentrate diets. Br. J. Nutr. 2005; 93: 479-484.
119. Sniffen CJ, Ballard CS, Carter MP, Cotanch KW, Dann RJ, Grant HM, Mandebvu P, Suekawa M, Martin SA. Effects of malic acid on microbial efficiency and metabolism in continuous culture of rumen contents and on performance of mid-lactation dairy cows. Anim. Feed. Sci. Tec. 2006; 127: 13-31.

- 120.** Willams PEU, Tait CAG, Innes GM, Newbold CJ. Effects of Inclusion of Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the Diet of Dairy Cows on Milk Yield and Forage Degradation and Fermentation Patterns in the Rumen of Steers. *J. Anim. Sci.* 1991; 69(7): 3016-3026.
- 121.** Biricik H, Turkmen İİ, Deniz G, Gulmez BH, Gencoğlu H, Bozan B. Effects of Synchronizing Starch and Protein Degradation in Rumen on Fermentation, Nutrient Utilization and Total Tract Digestibility in Sheep. *J. Anim. Sci.* 2006; 5: 341-348.
- 122.** Corona L, Mendoza GD, Castrojen FA, Crosby MM, Cobos MA. Evaluation of Two Yeast Cultures (*Saccharomyces Cerevisiae*) on Ruminal Fermentation and Digestion in Sheep Fed a Corn Stover Diet. *Small Rum. Res.* 1999; 31: 209-214.
- 123.** Angeles C, Mendoza MGD, Cobos PMA, Crosby GMM, Castrejon PFA. Comparison of Commercial Yeast Culture (*Saccharomyces Cerevisiae*) on Ruminal Fermentation and Digestion in Sheep Fed on Corn Stover Diet. *Small Rum. Res.* 1998; 31: 45- 50.
- 124.** Pen B. Studies on Manipulation of Ruminal Fermentation and Methanogenesis by Natural Products. United Graduate School of Agricultural Sciences, Iwate University, and Thesis. March 2007.
- 125.** Santoso B, Mwenya B, Sar C, Gamo Y, Kobayashi T, Morikawa R, Kimura K, Mizukoshi H, Takahashi J. Effects of Supplementing Galacto- Oligosaccharides, *Yucca Schidigera* or Nisain on Rumen Methanogenesis, Nitrogen and Energy Metabolism in Sheep. *Livest. Prod. Sci.* 2004; 91, 209-217.
- 126.** Mwenya B, Santoso B, Sar C, Pen B, Morikawa R, Takaura K, Umetsu K, Kimura K, Takahashi J. Effects of Yeast Culture and Galacto-Oligosaccharides on Ruminal Fermentation in Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* 2005a; 88: 1404-1412.

- 127.** Mwenya B, Sar C, Santoso B, Kobayashi T, Morikawa R, Takaura K, Umetsu K, Kogawa S, Kimura K, Mizukoshi H, Takahashi J. Comparing the Effects of B 1-4 Galacto-Oligosaccharides and L-Cysteine to Monensin on Energy and Nitrogen Utilization in Steers Fed a Very High Concentrate Diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2005b; 118: 19-30.
- 128.** Arcos-Garcia JL, Castrejon FA, Mendoza GD, Perez-Gavilan EP. Effect of Two Commercial Yeast Cultures with *Saccharomyces Cerevisiae* on Ruminal Fermentation and Digestion in Sheep Fed Sugar Cane Tops. *Livest. Prod. Sci.* 2000; 63: 153-157.
- 129.** Andrighetto I, Bailoni L, Cozzi G, Beriaghi P. Effects of Yeast Culture Addition on Digestion in Sheep Fed a High Concentrate Diet. *Small Rum. Res.* 1993; 12:27-34.
- 130.** Newbold CJ, Williams PEV, McKain N, Walker A, Wallace RJ. The Effect of Yeast Culture on Yeast Number and Fermentation in the Rumen of Sheep. *Proc. Nutr. Soc.* 1990; 47 (A): 49.
- 131.** Olson KC, Caton JS, Kirby DR, Norton PL. Influence of Yeast Culture Supplementation and Advancing Season on Steers Grazing Mixed-Grass in the Northern Great Plains: II. Ruminal Fermentation, Site of Digestion and Microbial Efficiency. *J. Anim. Sci.* 1994; 72(8): 2158-2170.
- 132.** Fiems LO, Cottyn BG, Dussert L, Vanacker JM. Effect of a Viable Yeast Culture on Digestibility and Rumen Fermentation in Sheep Fed Different Types of Diets. *Reproduction Nutrition Division.* 1993; 33: 43-4.
- 133.** Blauvviekel R, Coney KA, Riley RE. Baker's Yeast Effluent as a Liquid Feed for Dairy Cows and Heifers. *J. Dairy Sci.* 1995; 78(2): 397- 403.

- 134.** Besong S, Jakson JA, Hicks CL, Hemken RW. Effects of Supplemental Liquid Product on Feed Intake, Ruminal Profiles, and Yield, Composition, and Organoleptik Characteristics of Milk from Lactating Holstein Cows. *J. Dairy Sci.*, 1996; 79 (9): 1654 -1658.
- 135.** Higginbotham GE, Collar CE, Aseltine MS, Bath DL. Effect of Yeast Culture and *Aspergillus oryzae* Extract on Milk Yield in a Commerical Dairy Herd. *J. Dairy Sci.*, 1994; 77(1):343-348.
- 136.** Panda AK, Rameshwar S, Pathak NN, Singh R. Effect of Dietary Inclusion of *Saccharomyces cerevisiae* on Rumen Fermentation in Crossbred Calves. *Indian J. Anim. Nutr.* 1999; 16: 291-294.
- 137.** Jouany JP, Mathieu F, Senaud J, Bohatier J, Bertin G, Mercier M. The Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on the Digestion of The Cell Wall Fraction of a Mixed Diet in Defaunated and Refaunated Sheep Rumen. *Reprod. Nutr. Dev.* 1998; 38: 401-416.
- 138.** Altıntaş A, Fidancı AU. Evcil Hayvanlarda ve İnsanda Kanın Biyokimyasal Normal Değerleri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 1993; 40(2):173-186.
- 139.** Anonymus. *Veterinary Reference Guide Conventional Units.* Kodak Diagnostics. Estman Kodak Co. Newyork 1993.
- 140.** Randby AT, Selmerolsen I and Baevre L. Effect of Ethanol in Feed on Milk Flavor and Chemical Composition. *J. Dairy Sci.* 1999; 82(2): 420-428.
- 141.** Georgievskii VI. The Physiological Role of Microelements, Mineral Nutrition of Animals. Eds. Georgievskii VI, Annenkov BN, Samokhin VT. Butterworths London UK. 1982; 72(3): 171.



- 142.** Ruls R. Mineral Levels in Animal Health. Diagnostic Data. 3<sup>rd</sup> (ed) Sherpa International P.O.Box. Canada 1990
- 143.** Yalçın S, Küçükersan K, Küçükersan S. Besi Kuzularının Rasyonlarına Katılan Monensinin Bazı Kan ve Rumen Sıvısı Metabolitlerine Etkisi. Doga Türk Vet. ve Hay. Derg. 1995; 19: 279-302.
- 144.** Abas İ, Kutay HC, Kahraman R, Toker NY, Özçelik D, Ates F, Kaçakçı A. Effects of Organic Acid and Bacterial Direct-Feed Microbial on Fattening Performance of Kivircik-Male Yearling Lambs. Pakistan J. Nutr., 2007; 6 (2): 149-154.